

(51) Int. Cl.

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 D 231/38

(2006. 01)

C 0 7 D 231/38

C S P Z

4 C 0 6 3

C 0 7 D 405/12

(2006. 01)

C 0 7 D 405/12

4 C 0 8 6

C 0 7 D 401/12

(2006. 01)

C 0 7 D 401/12

C 0 7 D 413/12

(2006. 01)

C 0 7 D 413/12

C 0 7 D 403/12

(2006. 01)

C 0 7 D 403/12

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全78頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2004-561628 (P2004-561628)  
 (86) (22) 出願日 平成15年12月18日 (2003.12.18)  
 (85) 翻訳文提出日 平成17年8月10日 (2005.8.10)  
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2003/005501  
 (87) 国際公開番号 WO2004/056782  
 (87) 国際公開日 平成16年7月8日 (2004.7.8)  
 (31) 優先権主張番号 0229618.4  
 (32) 優先日 平成14年12月19日 (2002.12.19)  
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 504236215

ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド  
 VERNALIS (CAMBRIDGE)  
 LIMITED  
 イギリス、ケンブリッジ シービー 1 6  
 ジービー、アビントン、グラント パーク  
 (番地なし)  
 Granta Park, Abingto  
 n, Cambridge CB1 6GB  
 , United Kingdom

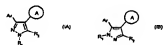
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ピラゾール化合物

(57) 【要約】

式 (1A) もしくは (1B) :

【化 1】



(1A)



(1B)

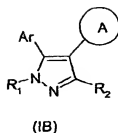
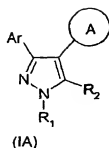
の化合物、またはそれらの塩、N-オキサイド、水和物もしくは溶媒和物はHSP90の阻害剤であり、それらは癌のようなHSP90阻害に応答する疾病の治療に価値がある。式中、Ar はアリール、アリール(C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>アルキル)、アリール(C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>アルキル)、ヘテロアリール、ヘテロアリールアリール(C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>アルキル)またはヘテロアリールアリール(C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>アルキル)基であり、それらのアリールまたはヘテロアリール部分は、任意に置換されていてもよい；R<sub>1</sub> は水素または任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルであり；R<sub>2</sub> は水素、任意に置換されていてもよいシクロアルキル、シクロアルケニル、C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>アルキル、C<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>アルケニルもしくはC<sub>6</sub>-C<sub>8</sub>アルキニル；またはカルボキシ、カルボキサミドもしくはカルボキシエステ

【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(IA)もしくは(IB)：

【化1】



10

(式中、

Ar は、アリール、アリール(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)、ヘテロアリール、またはヘテロアリール(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)基であり、それらのアリールまたはヘテロアリール部分は、任意に置換されていてもよい；

R<sub>1</sub> は、水素または任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルであり；

R<sub>2</sub> は、水素、任意に置換されていてもよいシクロアルキル、シクロアルケニル、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルケニルもしくはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキニル；またはカルボキシ、カルボキサミド 20

もしくはカルボキシエステル基であり；そして、

環Aは、非芳香族の炭素環もしくは複素環であり、(i)環炭素は、任意に置換されていてもよく、そして／または(ii)環空素は式-(Alk')<sub>n</sub>-(Cyc)、-(Alk')<sub>n</sub>-(Z)、-(Alk')<sub>n</sub>-Qの基；

(ここで、Alk'、Alk'およびAlk'は任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルであり、Cycは任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基であり、

m、n、p、rおよびsは、独立して0または1であり、Zは、-O-、-S-、-(C=O)-、-SO<sub>2</sub>-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-NR'<sup>a</sup>-、-C(=O)NR'<sup>a</sup>-、-NR'<sup>a</sup>C(=O)-、-SO<sub>2</sub>NR'<sup>a</sup>-または-NR'<sup>a</sup>SO<sub>2</sub>- (ここで、R'<sup>a</sup>は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルである)であり、そして

Qは、水素または任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基である)

で任意に置換されていてもよい)

の化合物、またはそれらの塩、N-オキシド、水和物もしくは溶媒和物。

30

【請求項2】

Arが任意に置換されていてもよいアリール、またはヘテロアリール基であり；そして

環Aが非芳香族の炭素環もしくは複素環であり、(i)環炭素は任意に置換されていてもよく、そして／または(ii)環空素は式-(Alk')<sub>n</sub>-(Z)、-(Alk')<sub>n</sub>-Qの基；

(ここで、Alk'、Alk'は任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルであり、p、rおよびsは、独立して0または1であり、

Zは、-O-、-S-、-(C=O)-、-SO<sub>2</sub>-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-NR'<sup>a</sup>-、-C(=O)NR'<sup>a</sup>-、-NR'<sup>a</sup>C(=O)-、-SO<sub>2</sub>NR'<sup>a</sup>-または-NR'<sup>a</sup>SO<sub>2</sub>- (ここで、R'<sup>a</sup>は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルである)であり、そして

Qは、水素または任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基である)

で任意に置換されていてもよい、

請求項1に記載の化合物。

40

【請求項3】

Arが、さらに任意に置換されていてもよい2-ヒドロキシフェニル基である、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項4】

Arが、5位がさらに任意に置換されていてもよい2,4-ジヒドロキシフェニル基である、請求項3に記載の化合物。

【請求項5】

50

Arが、5位が塩素または臭素でさらに置換されている2,4-ジヒドロキシフェニル基である、請求項4に記載の化合物。

【請求項6】

Arが、任意に置換されていてもよいフェニルまたはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルで5位がさらに置換されている2,4-ジヒドロキシフェニル基である、請求項4に記載の化合物。

【請求項7】

Arが、そのフェニル環が任意に置換されていてもよいフェニルエチル基で5位がさらに置換されている2,4-ジヒドロキシフェニル基である、請求項1に記載の化合物。

【請求項8】

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>が、独立して、水素、メチル、エチル、n-もしくはiso-プロピル、ヒドロキシエチルまたはベンジルである、請求項1～7のいずれかに記載の化合物。

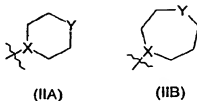
【請求項9】

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がそれぞれ水素である、請求項1～6のいずれかに記載の化合物。

【請求項10】

環Aが、式(IIA)もしくは(IIB)：

【化2.】



20

(式中、XはCHまたはNを表し、Yは、CH、O、SまたはNHを表し、ここで(i)環炭素は任意に置換されていてもよく、そして/または(ii)環窒素は式-(Alk'), -(Cyc), -(Alk'), -(Z), -(Alk'), -Qの基：

(ここで、Alk', Alk'およびAlk'は任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>であり、Cycは任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基であり、

m、n、p、rおよびsは、独立して0または1であり、

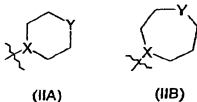
Zは、-O-, -S-, -(C=O)-, -SO<sub>2</sub>-, -C(=O)O-, -C(=O)NR', -SO<sub>2</sub>NR', -NR'C(=O)-, -NR'SO<sub>2</sub>-, または-NR'- (ここで、R'は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルである) であり、そしてQは、水素または任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基である) で任意に置換されていてもよい)

の環である、請求項1～9のいずれかに記載の化合物。

【請求項11】

環Aが、式(IIA)もしくは(IIB)：

【化3】



40

(式中、XはCHまたはNを表し、YはCH、O、SまたはNHを表し、ここで(i)環炭素は任意に置換されていてもよく、そして/または(ii)環窒素は式-(Alk'), -(Z), -(Alk'), -Qの基：

(ここで、Alk', Alk'は任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルであり、

p、rおよびsは、独立して0または1であり、

Zは、-O-, -S-, -(C=O)-, -SO<sub>2</sub>-, -C(=O)O-, -C(=O)NR', -SO<sub>2</sub>NR', -NR'C(=O)-, -NR'SO<sub>2</sub>-, または-NR'- (ここで、R'は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルである) であり、

50

そして

Qは、水素または任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基である)

で任意に置換されていてもよい)

の環である、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 12】

任意に置換されていてもよい環 A が、式 (IIA) (ここで、X は N であり、Y は NH または CH である) である、請求項 10 または 11 に記載の化合物。

【請求項 13】

任意に置換されていてもよい環 A が、式 (IIA) であり、X が N であり、Y が  $-NR^4-$  (ここで、 $R^4$  は、式  $-(Alk^1)-Q$  の基 (ここで、 $Alk^1$  は  $C_1-C_6$  アルキレンであり、Q は任意に置換されていてもよいフェニル、ピリジル、フリル、チエニル、オキサジアゾリル、イミダゾリルもしくはモルホリニルである) である) である、請求項 11 に記載の化合物。

【請求項 14】

$R^4$  が、任意に置換されていてもよいベンジル基である、請求項 13 に記載の化合物。

【請求項 15】

任意に置換されていてもよい環 A が、式 (IIA) であり、X が N であり、Y が  $-NR^4-$  (ここで、 $R^4$  は、式  $-(Alk^1)_p-(Cyc)_q-(Alk^1)_r-(Z)_s-(Alk^1)_t-Q$  の基である) である、請求項 11 に記載の化合物。

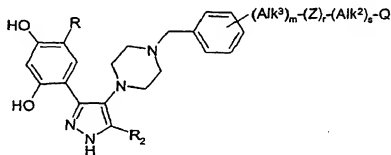
【請求項 16】

p が 1 であり、m がそれぞれ 1 であり、そして Cyc がフェニレン基である、請求項 15 に記載の化合物。

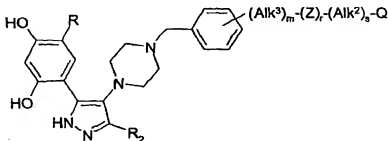
【請求項 17】

式 (IC) もしくは (ID) :

【化 4】



(IC)



(ID)

(式中、Rは、水素、任意の置換基、またはそのフェニル環が任意に置換されていてもよいフェニルエチル基であり、 $R_1$ 、m、r、s、 $Alk^1$ 、Zおよび $Alk^1$ は、請求項 1 で定義されたとおりである) の化合物、またはそれらの塩、N-オキサイド、水和物もしくは溶媒和物。

## 【請求項 18】

R<sub>1</sub> が水素である、請求項 17 に記載の化合物。

## 【請求項 19】

R が塩素、臭素、またはそのフェニル環が任意に置換されていてもよいフェニルエチル基である、請求項 17 または 18 に記載の化合物。

## 【請求項 20】

g が 0 であり、r が 1 であり、そして Z が -C(=O)NH- である、請求項 17 ～ 19 のいずれかに記載の化合物。

## 【請求項 21】

この明細書に具体的に名前が挙げられているかもしくは開示されている、またはこの明細書の実施例の主題である、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

## 【請求項 22】

請求項 1 ～ 21 のいずれかに記載の化合物の有効量を、哺乳動物に投与することを含む、HSP90 活性の阻害に应答する哺乳動物、特にヒトの疾病または病態の治療方法。

## 【請求項 23】

ヒトもしくは動物用医薬に使用するための、請求項 1 ～ 21 のいずれかに記載の化合物。

## 【請求項 24】

HSP90 活性の阻害に应答する疾病または病態の治療に使用するための、請求項 1 ～ 21 のいずれかに記載の化合物。

## 【請求項 25】

HSP90 活性の阻害に应答する疾病または病態を処置するための医薬の製造における、請求項 1 ～ 21 のいずれかに記載の化合物の使用。

20

## 【請求項 26】

疾病または病態が癌である、請求項 22 に記載の方法、請求項 23 もしくは 24 に記載の使用のための化合物、または請求項 25 に記載の使用。

## 【請求項 27】

疾病または病態が、ウイルス病、移植拒絶、炎症性疾患、喘息、多発性硬化症、1 型糖尿病、狼瘡、乾癬、炎症性腸疾患、嚢胞性線維症、血管形成関連疾病、糖尿病性網膜症、血管種または子宮内膜症である、請求項 22 に記載の方法、請求項 23 もしくは 24 に記載の使用のための化合物、または請求項 25 に記載の使用。

30

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、HSP90 阻害活性を有する置換ピラゾール、癌のような HSP90 活性の阻害に应答する疾病に関連した医薬での該化合物の使用、および該化合物を含む医薬組成物に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

発明の背景

分子シャペロンは、蛋白質の適切な折り畳みや立体構造を維持し、蛋白質の合成と分解のバランスの調節に非常に重要である。それらは、細胞増殖やアポトーシスのような多くの重要な細胞機能の調節に重要であることが示されている (Jolly および Morimoto, 2000; Smith ら, 1998; Smith, 2001)。

## 【0003】

## 熱ショック蛋白質 (HSPs)

細胞が、熱ショック、アルコール、重金属および酸化ストレスを含む多くの環境ストレスに曝されると、熱ショック蛋白質 (HSPs) として一般に知られている多くのシャペロンが、細胞に蓄積する。HSPs の誘導は、初期ストレス傷害から細胞を保護し、再生を高め、そしてストレス耐性状態の維持に導く。しかしながら、ある種の HSPs は、正常な、ストレスのない状態のもとで、重要な細胞蛋白質の増殖の一環である、正確な折り畳み、分解、局

50

在そして機能を調節することにより、主要な分子シャペロンの役割を果たすことも明らかとなっている。

【0004】

細胞の発現、機能および局在の点で異なっている個々の遺伝子産物をもった多くのHSPs多重遺伝子族が存在する。それらは、分子量により、例えば、HSP70、HSP90およびHSP27のように分類される。

【0005】

ヒトのいくつかの疾病は、蛋白質の間違った折り畳みの結果からもたらされ得る(Tytle11ら、2001に概説; Smithら、1998)。それゆえに、分子シャペロン機構を混乱させる治療の発展が有益であることを立証するかもしれない。ある容態(例えば、アルツハイマー病、プリオン病およびハンチントン病)において、間違っ

10

て折り畳まれた蛋白質が、神経変性疾患をもたらす蛋白質凝集の原因となり得る。そのうえ、間違っ

て折り畳まれた蛋白質は、野生型蛋白質の機能の損失をもたらし、細胞内で分子および生理的な機能の非調節に導き得る。

【0006】

HSPsは癌にも関係している。例えば、腫瘍の進行段階に関係のあるHSPsによる分化発現の証拠がある(Martinら、2000; Conroyら、1996; Kawanishiら、1999; Jameelら、1992; Hoangら、2000; Lebeauら、1991)。種々の重大な腫瘍形成経路でのHSP90の関与、そして抗癌活性を有するある種の天然物が、この分子シャペロンを標的にしていることの発見の結果から、HSPの機能を阻害すれば、癌治療に役立つかもしれないとの魅力的で新しい概念が、展開されてきた。最初の分子シャペロン阻害剤が、現在、臨床試験中である。

20

【0007】

#### HSP90

HSP90は、全細胞蛋白質の約1~2%を構成しており、通常は、細胞中で、他の多くの蛋白質の一つと結合して2量体として存在している(例えば、Pratt、1997参照)。それは、細胞生存のために必須のものであり、二相のシャペロン機能を示す(Youngら、2001)。それは、種々の環境ストレス、例えば熱ショックによって本来の立体構造が変化させられた後に多くの蛋白質と相互作用すること、適切な蛋白質の折り畳みを保証すること、および非特異的な凝集を防ぐことによって、細胞のストレス応答において重要な役割を果たす(Smithら、1998)。さらに、最近の結果は、HSP90は、多分、突然変異蛋白質の不適當な折り畳みを修正することにより、突然変異の影響を緩和する役割を果たすことを示唆している(RutherfordおよびLindquist、1998)。

30

【0008】

しかしながら、HSP90は、重要な調節の役割も有している。正常な生理的状態下、HSP90は、その小胞体ホモログのGRP94と一緒に、細胞内でハウスキーピングの役割も果たしており、いくつかの重要なクライエント蛋白質の安定な立体構造および成熟(maturation)を維持する。これらは、3グループ:(a)ステロイドホルモン受容体、(b)Ser/Thrまたはチロシン・キナーゼ(例えば、ERBB2、RAF-1、CDK4およびLCK)および(c)例えば変種p53およびテロメラーゼhTERTの触媒サブユニットのような明らかに無関連の蛋白質の集団に細分化できる。これら全ての蛋白質は、細胞内の多くの生理学的および生化学的工

40

程で、重要な調節の役割を果たしている。新規なHSP90クライエント蛋白質が、絶えず同定されている。

【0009】

ヒトにおいて、多く貯蔵されているHSP90ファミリーは、4つの遺伝子、すなわち、サイトソルHSP90αおよびHSP90β同種体(isoform)(Hickeyら、1989)、小胞体中のGRP94(Argonら、1999)およびミトコンドリア質中のHSP75/TRAP1(Fellisら、2000)からなる。それらのファミリー全体は、同じような作用形態を有するが、細胞内での局在により、異なったクライエント蛋白質と結合すると考えられる。例えば、ERBB2は、GRP94の特異的なクライエント蛋白質であることが知られており(Argonら、1999)、そしてタイプ1腫瘍壊死因子受容体(TNFR1)およびRBは両方ともTRAP1のクライエントであることが示され

50

ている (Songら、1995; Chenら、1996)。

#### [0010]

HSP90は、クライアント蛋白質と調節蛋白質の間での一連の複合相互作用に関与している (Smithら、2001)。正確な分子についての詳細な説明は残っているが、最近数年間にわたる生化学的およびX-線結晶学的研究は、HSP90のシャペロン機能にますます詳細な洞察を与えた。

#### [0011]

この問題に関する以前の議論に次いで、HSP90は、ATP加水分解に必須であるヌクレオチド結合ドメインの2量体の状態にあるATP-依存性分子シャペロンであり (Prodromouら、1997)、そして今度はこれがシャペロン機能に必須である (Prodromouら、2000a) ことが、今明らかになっている。ATPとの結合は、N末端ドメイン同士を、互いにより近づけて接触しやすいために、そして「かすがい機構 (clamp mechanism)」として知られている立体構造の切替えをもたらすドーナツ状の2量体構造の形成をもたらす (ProdromouおよびPearl、2000b)。

#### [0012]

##### 公知のHSP90阻害剤

最初に発見されたHSP90阻害剤のクラスは、ベンゾキノリン アンサマイシン クラスで、それは、ハービマイシンAおよびゲルダナマイシンを含んでいる。それらにより、v-Src癌遺伝子で形質転換された繊維芽細胞の悪性の遺伝表現型が逆転することが示され (Ueharaら、1985)、次いで、in vitro (Schulteら、1998) そしてin vivoの動物モデル (Supkoraら、1995) の両方で、強力な抗腫瘍活性を有することが示された。

#### [0013]

免疫沈降およびアフィニティ・マトリックスの研究により、ゲルダナマイシンの主作用機構は、HSP90との結合であることが示された (Whitesellら、1994; SchulteおよびNekers、1998)。さらに、X-線結晶学的研究から、ゲルダナマイシンは、ATPとの結合部位で競合し、HSP90の内因性のATPアーゼ (ATPase) 活性を阻害することが示された (Prodromouら、1997; Panaretouら、1998)。そして次に、これがクライアント蛋白質をシャペロンする (chaperoning) ことのできる、成熟した多重結合のHSP90複合体の生成を妨げる。その結果、クライアント蛋白質は、ユビキチン・プロテアソーム経路を経る分解の標的にされる。17-アルキルアミノ、17-デメトキシゲルダナマイシン (17AAG) は、クライアント蛋白質を潤滑させるHSP90阻害作用ならびに培養細胞および異種移植モデルでの抗腫瘍活性は保持している (Schulteら、1998; Kellandら、1999) が、肝毒性はゲルダナマイシンよりも有意に弱い (Pageら、1997)。17AAGは、現在、フェーズI臨床試験で評価がなされている。

#### [0014]

ラジシコールは、v-Srcおよびv-Ha-Rasにより形質転換された繊維芽細胞の悪性の遺伝表現型を逆転することが示された大環状抗生物質である (Kwonら、1992; Zhaoら、1995)。HSP90阻害により、多くのシグナル蛋白質を分解することが示された (Schulteら、1998)。X-線結晶学的データにより、ラジシコールもまたHSP90のN末端ドメインに結合し、内因性ATPase活性を阻害することが確認された (Roeら、1998)。ラジシコールは、化合物が化学的に不安定なために、in vivoでは抗腫瘍活性が欠如している。

#### [0015]

クラミン抗生物質は、HSP90のそれと相同性のあるATP結合部位でバクテリアのDNAジャイレースに結合することが知られている。クラミン、ノボピオシンは、HSP90のカルボキシ末端、すなわちN-末端で結合するベンゾキノリン アンサマイシン類およびラジシコールが占める部位とは異なった部位で結合することが示された (Marcuら、2000b)。しかしながら、それでもHSP90機能を阻害し、HSP90でシャペロンされる多くのシグナル蛋白質の分解をもたらした (Marcuら、2000a)。

ゲルダナマイシンは、ノボピオシンに次いで、HSP90を捕縛することができない。このことは、NおよびC末端ドメインの間に何らかの相互作用が存在しなければならぬことを

示しており、このことは、両方の部位が、HSP90シャペロンの性質にとって重要である点と矛盾がない。

【 0 0 1 6 】

ブリンを基礎とするHSP90阻害剤であるPU3は、erb-B2を含むシグナル分子の分解をもたらし、そして乳癌細胞の細胞周期停止や分化を起こさせることが示されている (Chiosisら、2001)。

【 0 0 1 7 】

#### 治療標的としてのHSP90

分子シャペロンHSP90が、腫瘍の遺伝表現型を誘導する際に非常に重要である多くのシグナル経路を調節することに関わっていること、およびある種の生理活性天然物が、HSP90 10への活性を経てそれらの効果を発揮することの発見により、現在、分子シャペロンHSP90が抗癌剤開発のための新規な標的として、評価されている (Neckersら、1999)。

【 0 0 1 8 】

ゲルダナマイシン、17AAGおよびラジシコールの最も重要な作用機作は、蛋白質のN-末端ドメインに存在しているATP結合部位でHSP90と結合することであり、そして、それがHSP90の内因性ATPase活性の阻害に導く (Prodromouら、1997; Stebbinsら、1997; Panarello 10うら、1998を参照)。

【 0 0 1 9 】

HSP90 ATPase活性の阻害は、コシャペロン (co-chaperones) の補充を妨害し、ユビキチン・プロテアソーム経路を経る分解のためにクライエント蛋白を標的とする、HSP90 20へテロ複合体型の形成を促進する (Neckersら、1999; Kellandら、1999を参照)。

【 0 0 2 0 】

HSP90阻害剤での処理は、癌において根本的に重要なプロセスである、細胞増殖、細胞周期調節およびアポトーシスに関与する重要な蛋白質の選択的な分解に導く。

【 0 0 2 1 】

HSP90機能の阻害により、根本的に重要であり、そして癌においては一般に非調節な状態にあるプロセスの、細胞増殖、細胞周期調節およびアポトーシスに関与する重要なシグナル蛋白質の選択的な分解を引き起こすことが示されている (Hosteinら、2001を参照)。臨床で使用するために、これを標的とする医薬の開発のための魅力的な根拠は、形質転換された遺伝表現型と関連する蛋白質を同時に漏洩することにより、強力な抗腫瘍効果が 30得られ、癌細胞対正常細胞に対して治療の利点が得られることである。HSP90阻害によるこれら下流の事象が、HSP90阻害剤が培養細胞および動物モデルで抗腫瘍活性を示す原因であると信じられている (例えば、Schulteら、1998; Kellandら、1999参照)。

【 発明の開示 】

【 0 0 2 2 】

発明の概要

本発明は、HSP90阻害剤であって、癌細胞増殖を阻害する置換ビラゾール化合物の新規なクラスを提供するものである。一つの環炭素原子における芳香族置換分および隣接する環炭素原子における非芳香族の炭素環もしくは複素環置換分が、本発明の化合物の基本的な特徴である。

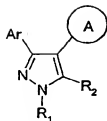
【 0 0 2 3 】

発明の詳細な記述

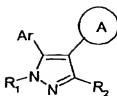
本発明によれば、式 (1A) もしくは (1B) :



【化1】



(IA)



(IB)

(式中、

Ar は、アリール、アリール(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル)、ヘテロアリールまたはヘテロアリール(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル)基であり、それらのアリールまたはヘテロアリール部分は任意に置換されていてもよい；

R<sub>1</sub> は、水素または任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルであり；

R<sub>2</sub> は、水素、任意に置換されていてもよいシクロアルキル、シクロアルケニル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルケニルもしくはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキニル；またはカルボキシ、カルボキサミドもしくはカルボキシエステル基であり；そして、

環Aは、非芳香族の炭素環もしくは複素環であり、(i)環炭素は任意に置換されていてもよく、そして／または(ii)環炭素は式-(Alk<sup>1</sup>)<sub>n</sub>-(Cyc)<sub>m</sub>-(Alk<sup>1</sup>)<sub>p</sub>-(Z)<sub>q</sub>-(Alk<sup>1</sup>)<sub>r</sub>-Qの基；

(ここで、Alk<sup>1</sup>、Alk<sup>1</sup>およびAlk<sup>2</sup>は任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルであり、Cycは任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基であり、

m、n、p、rおよびsは、独立して0または1であり、

Zは、-O-、-S-、-(C=O)-、-SO<sub>2</sub>-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-NR<sup>1</sup>-、-C(=O)NR<sup>1</sup>-、-NR<sup>1</sup>C(=O)-、-SO<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>-または-NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>- (ここで、R<sup>1</sup>は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルである)であり、そして

Qは、水素または任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基である)で任意に置換されていてもよい)

の化合物、またはそれらの塩、N-オキサイド、水和物もしくは溶媒和物が提供される。

【0024】

本発明の化合物の部分集合は、上で定義された式(IA)もしくは(IB)からなり、ここで、Arは任意に置換されていてもよいアリールまたはヘテロアリール基であり；そして、環Aは非芳香族の炭素環もしくは複素環であり、(i)環炭素は任意に置換されていてもよく、そして／または(ii)環炭素は式-(Alk<sup>1</sup>)<sub>n</sub>-(Z)<sub>q</sub>-(Alk<sup>1</sup>)<sub>r</sub>-Qの基；

(ここで、Alk<sup>1</sup>、Alk<sup>1</sup>は任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルであり、

p、rおよびsは、独立して0または1であり、

Zは、-O-、-S-、-(C=O)-、-SO<sub>2</sub>-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-NR<sup>1</sup>-、-C(=O)NR<sup>1</sup>-、-NR<sup>1</sup>C(=O)-、-SO<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>-または-NR<sup>1</sup>SO<sub>2</sub>- (ここで、R<sup>1</sup>は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルである)であり、そして

Qは、水素または任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基である)で任意に置換されていてもよい。

【0025】

化合物IAおよびIBにおいてR<sub>1</sub>が水素のとき、化合物IAおよびIBは、同じ化合物の互変異性型である。

【0026】

ここで用いられる、

「カルボキシ基」の語は、式-COOHの基であり、

「カルボキシエステル基」の語は、式-COORの基であり、ここでRはヒドロキシ化合物R<sup>0</sup>Hから実際にまたは概念的に誘導される基であり、そして

「カルボキサミド基」の語は、式-CONR<sub>2</sub>の基であり、ここで-NR<sub>2</sub>は、アンモニア 50

またはアミンHNR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>から実際にまたは概念的に誘導される一級または二級（環状を含む）アミノ基である。

[ 0 0 2 7 ]

ここで用いられる「(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル」の語は、1～6の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル基を意味し、例えばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、t-ブチル、n-ペンチルおよびn-ヘキシルを含む。

[ 0 0 2 8 ]

ここで用いられる「(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)アルケニル」の語は、2～6の炭素原子を有し、EまたはZの立体配置の二重結合を少なくとも一つ含む、直鎖または分枝鎖アルケニル基を意味し、例えばエチニルおよびアリルを含む。

10

[ 0 0 2 9 ]

ここで用いられる「(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキニル」の語は、2～6の炭素原子を有し、少なくとも一つの三重結合を含む直鎖または分枝鎖アルキニル基を意味し、例えばエチニルおよびプロパ-2-イニルを含む。

[ 0 0 3 0 ]

ここで用いられる「シクロアルキル」の語は、3～8の炭素原子を有する飽和炭素環式基を意味し、例えばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルを含む。

[ 0 0 3 1 ]

ここで用いられる「シクロアルケニル」の語は、少なくとも一つの二重結合を含む3～8の炭素原子を有する炭素環式基を意味し、例えばシクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘプテニルおよびシクロオクテニルを含む。

20

[ 0 0 3 2 ]

ここで用いられる「アリール」の語は、1、2または3環の炭素環式芳香族基を意味する。そのような基の例は、フェニル、ビフェニルおよびナフチルである。

[ 0 0 3 3 ]

ここで用いられる「炭素環式」の語は、環原子が全て炭素である環または環システムを意味し、単環式アリール、シクロアルキルおよびシクロアルケニル基を含む。

[ 0 0 3 4 ]

ここで用いられる「ヘテロアリール」の語は、S、NおよびOから選択される一つ以上の複素原子を含む1、2または3環式芳香族基を意味する。そのような基の例は、チエニル、ベンゾチエニル、フリル、ベンゾフリル、ピロリル、イミダゾリル、ベンズイミダゾリル、チアゾリル、ベンゾチアゾリル、イソチアゾリル、ベンズイソチアゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、ベンズオキサゾリル、イソキサゾリル、ベンズイソキサゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、ベンゾトリアゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、インドリルおよびインダゾリルである。

30

[ 0 0 3 5 ]

ここで用いられる無条件の用語「複素環式」または「複素環系」は、上で定義された「ヘテロアリール」を含み、特に、S、NおよびOから選択される一つ以上の複素原子を含む1、2または3環式の芳香族または非芳香族基を意味し、他の基または単環の炭素環式基と共有結合している一つ以上の複素原子を含む単環の芳香族または非芳香族基からなる群である。そのような基の例は、ピロリル、フラニル、チエニル、ピベリジニル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、チアジアゾリル、ピラゾリル、ピリジニル、ピロリジニル、ピリミジニル、モルホリニル、ピベラジニル、インドリル、モルホリニル、ベンゾフラニル、ピラニル、イソオキサゾリル、ベンズイミダゾリル、メチレンジオキシフェニル、エチレンジオキシフェニル、マレイミドおよびスクシンイミド基である。

40

[ 0 0 3 6 ]

用語が使用されている文脈中で、別の方法で特定されていなければ、ここで用いられて

50

いる「置換された」の語は、4つまでの置換基で置換されていることを意味し、その各々は独立して、例えば、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルコキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシ(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、メルカプト、メルカプト(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキルチオ、ハロ(フッ素および塩素を含む)、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ニトロ、ニトリル(-CN)、オキソ、フェニル、-COOH、-COOR<sup>a</sup>、-COR<sup>a</sup>、-SO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>、-CONH<sub>2</sub>、-CONHNH<sub>2</sub>、-CONHNHR<sup>a</sup>、-CONHNH<sup>a</sup>R<sup>a</sup>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-CONHR<sup>a</sup>、-SO<sub>2</sub>NHR<sup>a</sup>、-CONR<sup>a</sup>R<sup>a</sup>、-SO<sub>2</sub>NR<sup>a</sup>R<sup>a</sup>、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sup>a</sup>、-NR<sup>a</sup>R<sup>a</sup>、-OCONH<sub>2</sub>、-OCONHR<sup>a</sup>、-OCONR<sup>a</sup>R<sup>a</sup>、-NHCOR<sup>a</sup>、-NHCOOR<sup>a</sup>、-NR<sup>a</sup>COOR<sup>a</sup>、-NHSO<sub>2</sub>OR<sup>a</sup>、-NR<sup>a</sup>SO<sub>2</sub>OR<sup>a</sup>、-NHCONH<sub>2</sub>、-NR<sup>a</sup>CONH<sub>2</sub>、-NHCONHR<sup>a</sup>、-NR<sup>a</sup>CONHR<sup>a</sup>、-NHCONR<sup>a</sup>R<sup>a</sup>または-NR<sup>a</sup>CONR<sup>a</sup>R<sup>a</sup>(ここで、R<sup>a</sup>およびR<sup>b</sup>は独立して(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル基である)である。

[ 0 0 3 7 ]

10

ここで用いられる「塩」の語は、塩基付加塩、酸付加塩および4級塩を含む。酸性である本発明の化合物は、例えばナトリウムおよびカリウムの水酸化物のようなアルカリ金属水酸化物；例えばカルシウム、バリウムおよびマグネシウムの水酸化物のようなアルカリ土類金属水酸化物のような塩基と、また例えばN-エチルピペリジン、ジベンジルアミンなどの有機塩基と、医薬的または動物薬的に許容される塩を含む塩を形成することができる。

[ 0 0 3 8 ]

塩基性である化合物(1)は、例えば塩酸もしくは臭化水素酸のようなハロゲン化水素酸、硫酸、硝酸またはリン酸などの無機酸、ならびに例えば酢酸、酒石酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、リンゴ酸、サリチル酸、クエン酸、メタンスルホン酸およびp-トルエンスルホン酸などの有機酸と、医薬的または動物薬的に許容される塩を含む塩を形成することができる。

20

[ 0 0 3 9 ]

本発明のいくつかの化合物は、不斉炭素原子の存在により、一つ以上の顕在的または潜在的なキラル中心を有する。いくつかの不斉炭素原子の存在は、各々のキラル中心でのRまたはS立体化学により、多くのジアステレオマーを生じる。本発明は、そのようなジアステレオマーおよびそれらの混合物の全てを含む。

[ 0 0 4 0 ]

本発明の化合物において：

Arは、好ましくは2-ヒドロキシフェニル基で、より好ましくは、例えば5位がさらに任意に置換されていてもよい2,4-ジヒドロキシフェニル基である。任意の置換基は、塩素または臭素、任意に置換されていてもよいフェニルまたはC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル、およびフェニル環が任意に置換されていてもよいフェニルエチルを含む。

30

[ 0 0 4 1 ]

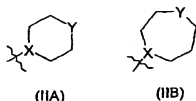
R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>の例としては、水素、メチル、エチル、n-もしくはiso-プロピル、またはヒドロキシエチルが挙げられる。R<sub>1</sub>の場合は水素が好ましく、R<sub>2</sub>の場合は水素またはメチルが好ましい。

[ 0 0 4 2 ]

環Aは、例えば式 (IIA)もしくは(IIB)の環である：

[ 化 2 ]

40



(式中、XはCHまたはNを表し、YはCH、O、SまたはNHを表し、(i)環炭素は任意に置換されていてもよく、そして/または(ii)環窒素は式-(Alk'), -(Cyc), -(Alk'), -(Z), -(Alk'), -Qの基：

50

(ここで、 $\text{Alk}^1$ 、 $\text{Alk}^2$ および $\text{Alk}^3$ は任意に置換されていてもよい $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ アルキルであり、 $\text{Cyc}$ は任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基であり、

$m$ 、 $n$ 、 $p$ 、 $r$ および $s$ は独立して0または1であり、

$Z$ は $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^4-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^4-$ 、 $-\text{NR}^4\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^4\text{SO}_2-$ または $-\text{NR}^4-$ (ここで、 $\text{R}^4$ は水素または $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ アルキルである)であり、

そして

$Q$ は水素または任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基である)で任意に置換されていてもよい)。

[ 0 0 4 3 ]

任意に置換されていてもよい環Aが式(IIA)の環のとき、 $X$ は $N$ が好ましく、 $Y$ は $\text{NH}$ または $\text{CH}$ であり、そしてより好ましくは、 $X$ は $N$ であり、 $Y$ は $-\text{NR}^4-$ であり、ここで、 $\text{R}^4$ は式-( $\text{Alk}^1$ )- $Q$ の基(ここで、 $\text{Alk}^1$ は $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$ アルキレン基である)である。そのような場合、例えば $\text{R}^4$ は任意に置換されていてもよいベンジル基であり、 $Q$ は任意に置換されていてもよいフェニル、ピリジル、フリル、チエニル、オキサジアゾリル、イミダゾリルまたはモルホリニルであり得る。

[ 0 0 4 4 ]

あるいは、任意に置換されていてもよい環Aが式(IIA)の環であるとき、 $X$ はであり、 $Y$ は $-\text{NR}^4-$ (ここで、 $\text{R}^4$ は式-( $\text{Alk}^1$ ) $_n$ -( $\text{Cyc}$ ) $_p$ -( $\text{Alk}^1$ ) $_s$ -( $Z$ ) $_r$ -( $\text{Alk}^1$ ) $_t$ - $Q$ である)であり得る。そのような多くの場合の一つにおいて、 $p$ は1であり、および $m$ はそれぞれ1であり、 $\text{Cyc}$ はフェニレン基である。

20

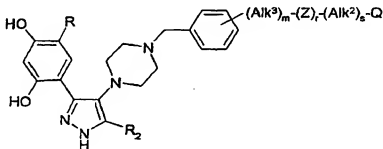
[ 0 0 4 5 ]

任意に置換されていてもよい環Aが式(IIA)の環であり、 $X$ が $N$ であり、 $Y$ が $-\text{NR}^4-$ である場合、置換基 $\text{R}^4$ の特定の例は、実施例の化合物中に見出すことができる。

[ 0 0 4 6 ]

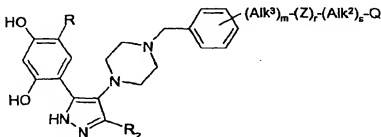
本発明の好ましい化合物のクラスは、式(IC)もしくは(1D)：

[化3]



(IC)

30



(1D)

40

(式中、 $R$ は水素、任意の置換基、またはフェニル環が任意に置換されていてもよいフェ

50

ニルエチル基であり、 $R_1$ 、 $m$ 、 $r$ 、 $s$ 、 $Alk^1$ 、 $Z$ および $Alk^2$ は上で定義したとおりである)の化合物、またはそれらの塩、 $N$ -オキシド、水和物もしくは溶媒和物からなる。

そのような化合物において、 $R_1$ は水素であり、 $R$ は例えば塩素、臭素、またはフェニル環が任意に置換されていてもよいフェニルエチル基であり、 $n$ は0であり、 $r$ は1であり、 $Z$ は $-C(=O)NH-$ であり得る。

【 0 0 4 7 】

本発明の特定の化合物は、以下の実施例の化合物を含む。本発明の化合物は、以下の実施例で用いられた方法と同様の方法で製造され得る。

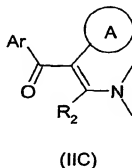
そして、それらは、一般的に、式 (IIA) の化合物と式 (IIB) の化合物：

【 化 4 】



とを反応させて式 (IIC) の中間体化合物：

【 化 5 】



を生成し、次いでこれをヒドラジン  $H_2N-NHR_1$  と反応させて、二つのピラゾール化合物 (IA) および (IB) の混合物を生成し、次いでこれらを分離することにより入手できる。

もちろん、上記の反応の間、 $Ar$ 、環  $A$  および置換基  $R_1$  および  $R_2$  中のいかなる潜在的な反応性基も保護し、次いで保護基を除去することが望ましい。

【 0 0 4 8 】

式 (IIA) の化合物は、式 (III) の化合物：

【 化 6 】



から環  $A$  のアニオンによる臭素の求核置換により製造される。

本発明のいくつかの化合物は、上記の一般的な方法によって作られる本発明の化合物を化学的に修飾することにより入手できる。

【 0 0 4 9 】

本発明の化合物はHSP90の阻害剤であり、したがって、HSP90活性の阻害に応答する疾病、例えば癌；C型肝炎(HCV)のようなウイルス病(Waxman, 2002)；移植におけるような免

疫抑制 (Bijlmakers, 2000およびYorgin, 2000) ; 慢性関節リウマチ、喘息、多発性硬化症 (MS) 、I型糖尿病、狼瘡、乾癬および炎症性腸疾患のような抗炎症性疾患 (Bucci, 2000) ; 膵膵性線維症 (Fuller, 2000) ; 血管形成関連疾患 (Hur, 2002およびKurebayashi, 2001) ; 糖尿病性網膜症、血管腫、乾癬、子宮内膜症および腸癌血管形成の治療に有用である。

#### [0050]

本発明のHsp90阻害剤は、また、化学療法により誘発される毒性から正常細胞を保護し、そしてアポトーシスを起こさないようになっていることが根本的な要因である疾病に有用である。そのようなHsp90阻害剤は、細胞ストレスの誘導または熱ショック蛋白質応答によって引き起こされる疾病、例えば、心臓 (Hutter, 1996およびTrost, 1998) および脳 (Plumier, 1997およびRajder, 2000) のHsp70の上昇による低酸素-虚血傷害からの保護にも有用である。

Hsp90阻害剤は、蛋白質の間違った折り畳みまたは凝集が主な原因である疾病、例えば、スクラビー/クロイツフェルト-ヤコブ病 (CJD) 、ハンチントン病およびアルツハイマー病 (Sittler, 2001; Trazett, 1995およびWinkhofer, 2001) にも用いることができる。

#### [0051]

したがって、本発明は：

- (i) 上記の式 (1A) もしくは (1B) の化合物の有効量を哺乳動物に投与することを含む、哺乳動物、特にヒトのHSP90活性の阻害に応答する疾病または病態の治療方法；および
- (ii) ヒトまたは動物の医薬、特にHSP90活性の阻害に応答する疾病または病態の治療に使用するための、上記の式 (1A) もしくは (1B) の化合物；および
- (iii) HSP90活性の阻害に応答する疾病または病態の管理（治療または予防を意味する）のための医薬の製造における上記の式 (1A) もしくは (1B) の化合物の使用も提供する。

#### [0052]

特定の患者に対する特定の投与量レベルは、用いられる特定化合物の活性、年齢、体重、身体全体の健康、性別、食事、投与時間、投与経路、排泄速度、薬の組合せ、治療を受ける特定の疾病の原因機序および重篤度を含む種々の要因に依存することが理解されるであろう。

一般的に、経口投与と製剤の適切な投与量は、通常、1日当り1回、2回または3回で、0.1~3000mgの範囲であるか、または点滴もしくは他の経路により投与される1日量に等しい量であろう。しかしながら、最適な投与量レベルおよび投回数、当分野で慣例の臨床試験によって決定されるであろう。

#### [0053]

本発明に関する化合物は、それらの薬物動態の性質と合致した経路による投与を目的として製造される。経口投与可能な組成は、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、トローチ剤、経口用、局所用または無菌非経口用溶液もしくは懸濁液のような液もしくはゲル製剤の形態である。

経口投与のための錠剤およびカプセル剤は、単位投与量を含む形態であり、それは慣用の賦形剤：例えばシロップ、アラビアゴム、ゼラチン、ソルビトール、トラガカントガムまたはポリビニルピロリドンのような結合剤；例えばラクトース、砂糖、トウモロコシデンプン、リン酸カルシウム、ソルビトールまたはグリシンのような充填剤；例えばステアリン酸マグネシウム、滑石、ポリエチレングリコールまたはシリカのような錠剤用滑沢剤；例えばバレイショデンプンのような崩壊剤、またはナトリウムラウリルスルフェートのような許容される潤滑剤を含んでいてもよい。錠剤は、普通の製薬の実務で周知の方法によりコーティングされてもよい。

#### [0054]

経口液剤は、例えば水性もしくは油性の懸濁液、溶液、乳液、シロップまたはエリキシルの形態であるか、または使用前に水もしくは他の適当な媒体で溶解する乾燥生成物の形

10

20

30

40

50

態であってもよい。上記の被剤は、慣用の添加剤：例えばソルビトール、シロップ、メチルセルロース、グルコースシロップ、ゼラチン、水素化された食用油脂のような懸濁剤；例えばレシチン、ソルビタンモノオレエートまたはアラビアガムのような乳化剤；例えばアーモンド油、ヤシ油、グリセリドのような油状エステル、ポリプロピレングリコールまたはエチルアルコールのような非水性媒体（食用油を含む）；例えばメチルもしくはプロピルp-ヒドロキシベンゾエートまたはソルビン酸のような保存剤、ならびに所望により慣用の芳香剤または着色剤を含んでいてもよい。

【 0 0 5 5 】

皮膚への局所適用のために、医薬はクリーム、ローションまたは軟膏にされ得る。そのような医薬のために使用されるクリームもしくは軟膏の製剤化は、例えば英国薬局方のような製剤学の標準的な教科書に記載されているような、当分野で周知慣用の製剤化である

【 0 0 5 6 】

活性成分は、無菌媒体中、非経口的にも投与され得る。用いられる媒体および濃度により、医薬は媒体に懸濁させるか、または溶解させることができる。局所麻酔剤のような補助剤、保存剤および緩衝剤も媒体に溶解することができる。

【 0 0 5 7 】

以下の実施例は、本発明の特定の化合物の製造および活性を示している。

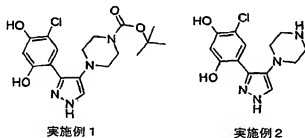
【 実施例 】

【 0 0 5 8 】

実施例 1：4-[3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシフェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル、および

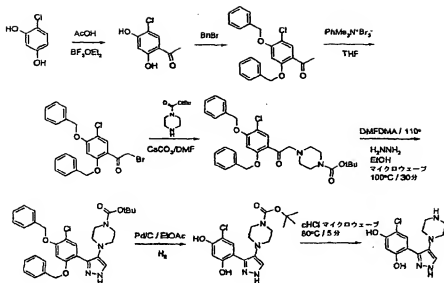
実施例 2：4-クロロ-6-(4-ピペラジン-1-イル-1H-ピラゾール-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオール

【 化 7 】



スキーム 1：ピペラジノピラゾールの合成

## 【化 8】



10

【 0 0 5 9 】

## 工程 1

1-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-エタノン

20

## 【化 9】



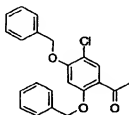
酢酸 (17.5mL) を、ボロントリフルオライドエーテラート (200mL) 中の 4-クロロレゾルシノール (42.5g, 0.293mmol) の懸濁液に、窒素雰囲気下、滴下した。反応混合物を 90℃ で 3. 30 5 時間加熱し、次いで室温まで冷却した。冷却から約 1 時間後に、固体が生成した。混合物を 10% w/v 酢酸ナトリウム水溶液 (700mL) 中に注入した。この混合物を 2.5 時間激しく攪拌した。明るい褐色の固体が生成し、それをろ過し、水で洗浄し、一晩風乾して、1-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-エタノン (31.6g, 58%) を得た。LCMS: [M-H]<sup>+</sup> 185

【 0 0 6 0 】

## 工程 2

1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-エタノン

## 【化 10】



40

ベンジルブROMIDE (30mL) を、アセトニトリル (350mL) 中の 1-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-エタノン (20g, 0.107mol) および炭酸カリウム (37g, 2.5 当量) の混合物に加えた。混合物を還流下に 6 時間加熱し、次いで冷却し、一晩攪拌した。混合物をろ過し、固体をジクロロメタン (3×100mL) で洗浄した。有機抽出液を合わせて、真空下に蒸発さ

50



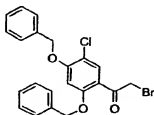
せ、淡黄色の固体を得、それをヘキサン(350mL)/酢酸エチル(15mL)の混液で粉砕し、ろ過して、オフホワイトの1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-エタノン(35.4g、90%)を得た。1H NMR(400MHz)は、この構造と一致した。

[ 0 0 6 1 ]

#### 工程 3

1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-2-ブromo-エタノン

[ 化 1 1 ]



10

フェニルトリメチルアンモニウムトリプロマイド(7.5g、0.02mol)を、テトラヒドロフラン(100ml)中の1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-エタノン(7.09g、0.019mol)の攪拌溶液に滴下し、混合物を2時間攪拌した。混合物を水(100ml)とジエチルエーテル(2×50ml)の間で分配した。有機相を合わせ、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮し、ベージュ色の固体を得た。トルエン(100ml)から結晶化し、1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-2-5-クロロ-フェニル)-2-ブromo-エタノンを白色の固体(4.5g)として得た。

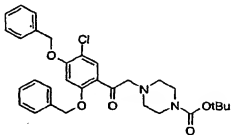
LC保持時間2.97分間、非イオン化 (実行時間3.75分間)

[ 0 0 6 2 ]

#### 工程 4

4-[2-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-2-オキソ-エチル]-ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチルエステル

[ 化 1 2 ]



30

炭酸セシウム(2.95g、9mmol)を、ジメチルホルムアミド(20ml)中の1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-2-ブromo-エタノン(4.4g、9mmol)およびピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチルエステル(1.74g、9mmol)の攪拌溶液に、3分制して加えた。懸濁液を2時間攪拌し、次いで水(200ml)と酢酸エチル(3×50ml)の間で分配した。有機抽出液を合わせ、水(100ml)で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮して、4-[2-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-2-オキソ-エチル]-ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチルエステルを黄色の油状物(4g)として得た。

40

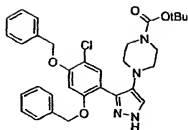
LC保持時間2.53分間[M+H]<sup>+</sup> 551.5 (実行時間3.75分間)

[ 0 0 6 3 ]

#### 工程 5

4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチルエステル

【化 1 3】



10

ジメチルホルムアミドジメチルアセタール(4ml)中の4-[2-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-2-オキソ-エチル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル(2g、3.6mmol)の溶液を、還流下に3時間加熱した。ジメチルホルムアミドジメチルアセタール(15ml)をさらに加え、混合物を還流下に4時間加熱した。混合物を7つのマイクロウェーブ容器に分割した。エタノール(1ml)およびヒドラジン水和物(1ml)を、各マイクロウェーブ容器に加え、120℃で5分間加熱した。全容器の内容物を合わせ、水(50ml)とジクロロメタン(3×30ml)の間で分配した。有機相を合わせ、濃縮し、ヘキサン、次いでヘキサン：エーテル；4:1、次いで1:1、次いで1:2、次いで1:4で溶出するボンド溶出カートリッジ(20g)で精製し、4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステルを白色の固体(620mg)として得た。 20

LC保持時間2.98分間[M+H]<sup>+</sup> 575.5 (実行時間3.75分間)

【0064】

工程6

4-[3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル(実施例1)

酢酸エチル(15ml)中の4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル(230mg、0.4mmol)の溶液を、10%パラジウム炭で1.5時間水素化した。懸濁液をセライトでろ過し、ジクロロメタン：エタノール(1:1)で洗浄した。ろ液を濃縮し、4-[3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル(実施例1) 30

LC保持時間2.24分間[M+H]<sup>+</sup> 395.3 (実行時間3.75分間)

【0065】

工程7

4-クロロ-6-(4-ピペラジン-1-イル-1H-ピラゾール-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオール(実施例2)

方法A

4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル(25mg、0.06mmol)および濃塩酸(1ml)の混合物をマイクロウェーブ中、80℃で5分間加熱した。混合物を乾燥するまで蒸発させ、トルエン 40

LC保持時間1.37分間[M+H]<sup>+</sup> 295.2 (実行時間3.75分間)

【0066】

方法B

ポロントリクロライド(ジクロロメタン中1M溶液；8ml、8mmol)を、ジクロロメタン(15ml)中の4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル(1.5g、2.6mmol)の溶液に0℃で滴下した。反応混合物を室温で1時間攪拌し、次いで重炭酸ナトリウム飽和溶液で塩基性にした。懸濁液を真空下に濃縮し、残渣が乾燥するまでトルエンで共沸した。残渣をジクロロメタン 50

：エタノール(1:1:15ml)で粉碎し、ろ過した。ろ液を、ジクロロメタン：エタノール：アンモニア、50:8:1、次いで20:8:1で溶出するボンド溶出カートリッジ(20g)で精製し、4-クロロ-6-(4-ピペラジン-1-イル-1H-ピラゾール-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオールを淡黄色の固体(400mg)(実施例2)として得た。

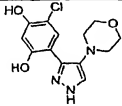
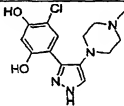
LC保持時間1.37分間[M+H]<sup>+</sup> 295.2 (実行時間3.75分間)

実施例1の化合物は、以下に記載のATPase評価で活性「B」を有し、実施例2の化合物は活性「A」を有していた。

【0067】

次の表中の化合物は、対応するアミンを用いて、スキーム1に示したようにして製造し、HPLCを用いて精製した。「HSP90 IC50」の欄中の記載は、以下に記載したATPase評価で得られた結果である。

【表1】

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
3		296	B
4		309	A

20

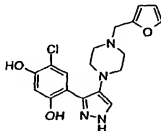
30

【0068】

実施例5

4-クロロ-6-[4-(4-フラン-2-イルメチル-ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール-3-イル]-ベンゼン-1,3-ジオール

【化14】

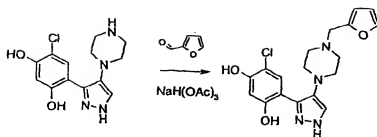


40

この化合物は、スキーム2に要約された経路によって合成された：

スキーム2：ピペラジンの還元的アミノ化

【化 1 5】



トリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウム(150mg、0.7mmol)を、4-クロロ-6-(4-ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオール(43mg、0.146mmol)、フルフラルデヒド(0.025ml、0.3mmol)、酢酸(0.5ml)およびジクロロメタン(1ml)の混合物に、1回で加えた。室温下で3時間攪拌を継続し、反応混合物を水(10ml)とジクロロメタン(3×10ml)の間で分配した。有機相を合わせ、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮し、ジクロロメタン：エタノール：アンモニア(100:8:1)で溶出するボンド溶出カートリッジ(5g)で精製して、4-クロロ-6-[4-(4-フラン-2-イルメチル-ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール-3-イル]-ベンゼン-1,3-ジオールを白色の固体(10mg)として得た。

LC保持時間[M+H]<sup>+</sup> 375.3 (実行時間3.75分間)

実施例5の化合物は、以下に記載したATPase評価で活性「B」を有していた。

【0069】

実施例6および7の化合物も、アセトアルデヒドおよび3-ピリジルアルデヒドをそれぞれ用いて、スキーム2により製造された。「HSP90 IC50」の欄中の記載は、以下に記載したATPase評価で得られた結果である。

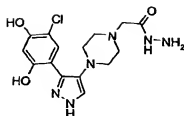
【表2】

実施例	構造	MH <sup>+</sup>	Hsp90 IC50
6		323	A
7		386	A

【0070】

実施例8

【化 1 6】

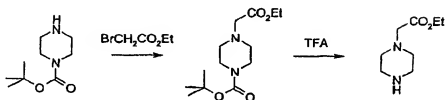


実施例 8 の化合物は、次の二つのスキームに記載したようにして製造された：

10

スキーム 3：ピペラジン酢酸エチルエステルの合成

【化 1 7】

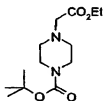


工程 1

20

4-エトキシカルボニルメチル-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル

【化 1 8】



ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル (2.62g, 14mmol)、炭酸セシウム (5g, 15.30 mmol) およびプロモ酢酸エチル (1.56g, 14mmol) を室温で 1 時間攪拌した。混合物を水 (200ml) とジエチルエーテル (2×100ml) の間で分配した。有機相を合わせ、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮し、黄色の油状物を得、結晶化して、4-エトキシカルボニルメチル-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステルを淡黄色の固体 (2.6g) として得た。

<sup>1</sup>H N.M.R (CDCl<sub>3</sub>) δ = 1.24 (3H, t, J=7.1Hz), 1.43 (9H, s), 2.49 (4H, t, J=5Hz), 3.20 (2H, s), 3.44 (4H, t, J=4.8Hz), 4.16 (2H, q, J=7.1Hz)。

【0 0 7 1】

工程 2

ピペラジン-1-イル-酢酸エチルエステル

【化 1 9】

40



90%トリフルオロ酢酸 (5ml) 中の 4-エトキシカルボニルメチル-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステルの溶液を 3 時間攪拌した。混合物を重炭酸ナトリウム飽和溶液で塩基性にし、濃縮した。残渣を酢酸エチル (30ml) で粉砕し、ろ過した。ろ液を濃縮して、ピペラジン-1-イル-酢酸エチルエステルを黄色の油状物 (約 1.5g) として得た。

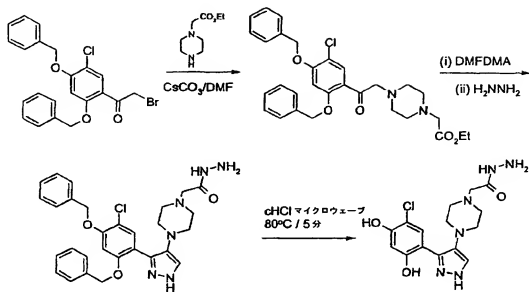
50

<sup>1</sup>H N.M.R (CDCl<sub>3</sub>) δ = 1.18 (3H, t, J=7.1Hz), 2.40 (4H, t, J=4.1Hz), 2.70 (4H, t, J=4.5Hz), 3.13 (2H, s), 3.45 (1H, br s), 4.01 (2H, q, J=7.1Hz)

【 0 0 7 2 】

スキーム 4 : アシルヒドラジドの合成

【 化 2 0 】



10

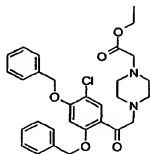
20

【 0 0 7 3 】

工程 3

[4-[2-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-2-オキソ-エテル]-ピペラジン-1-イル]-酢酸エチルエステル

【 化 2 1 】



30

ピペラジン-1-イル-酢酸エチルエステルを用いて、スキーム 1 に記載したようにして製造した。

LC 保持時間 2.32 分間 [M+H]<sup>+</sup> 537.5 (実行時間 3.75 分間)

40

【 0 0 7 4 】

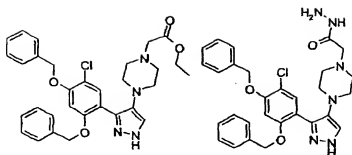
工程 4

[4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-イル]-酢酸エチルエステル

および

[4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-イル]-酢酸ヒドラジド

【化 2 2】



10

ジメチルホルムアミドジメチルアセタール(4ml)中の[4-[2-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-2-オキソ-エチル]-ピペラジン-1-イル]-酢酸エチルエステル(1.5g、2.80mmol)の溶液を、マイクロウェーブ中、140℃で30分間加熱した。溶液を二つに分け、各々をヒドラジン水和物(0.1ml)およびエタノール(2ml)と混合し、マイクロウェーブ中、100℃で5分間加熱した。混合物を合わせ、濃縮し、ボンド溶出カートリッジで精製して、[4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-イル]-酢酸エチルエステル(230mg)、および[4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-イル]-酢酸ヒドラジド(150mg)を得た。

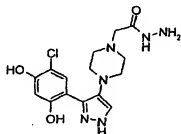
20

【 0 0 7 5】

工程 5

[4-[3-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-イル]-酢酸ヒドラジド(実施例 8)

【化 2 3】



30

実施例 2 の工程 7 の方法 A と同様にして、[4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-イル]-酢酸ヒドラジドから製造した。LC保持時間1.40分間[M+H]<sup>+</sup> 367.3 (実行時間3.75分間)

実施例 8 の化合物はATPase評価で活性「B」を有していた。

【 0 0 7 6】

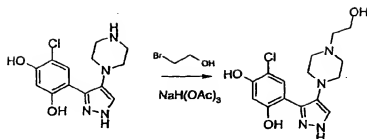
実施例 9

4-クロロ-6-[4-[4-(2-ヒドロキシ-エチル)-ピペラジン-1-イル]-1H-ピラゾール-3-イル]-ベンゼン-1,3-ジオール

スキーム 5 : ピペラジンのアルキル化

40

【化 2 4】



4-クロロ-6-(4-ピペラジン-1-イル-1H-ピラゾール-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオール (43 mg、0.146mmol)、炭酸セシウム (48g、0.146mmol)、2-ブromoエタノール (0.025ml、0.35mmol) およびジメチルホルムアミド (1ml) の混合物を、室温で3日間攪拌した。混合物を乾燥するまで蒸発させ、ジクロロメタン：メタノール (49:1) でボンド溶出カートリッジ (5g) に注ぎ、次いでジクロロメタン、次いでジクロロメタン：エタノール：アンモニア (50:8:1、次いで20:8:1) で溶出して、4-クロロ-6-[4-[4-(2-ヒドロキシ-エチル)-ピペラジン-1-イル]-1H-ピラゾール-3-イル]-ベンゼン-1,3-ジオールを白色の固体 (10mg) として得た。LC保持時間1.36分間 [M+H]<sup>+</sup> 339.3 (実行時間3.75)

実施例 9 の化合物はATPase評価で活性「B」を有していた。

【 0 0 7 7 】

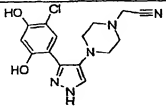
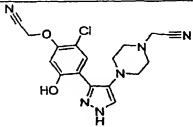
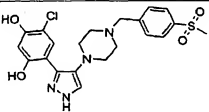
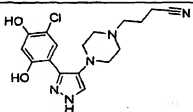
実施例 10～48は、適したアルキル化剤、アシル化剤またはスルホニル化剤を用いて、スキーム 5 に要約した方法によって製造した。「HSP90 1C50」の欄中の記載は、以下に記載したATPase評価で得られた結果であるか、またはアスタリスクで示されている場合は、以下に記載した蛍光偏光 (FP) 評価で得られた結果である。

10

20



【表 3 - 1】

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
10		334	B
11		373	B
12		463	A
13		361	A

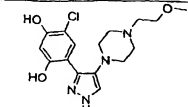
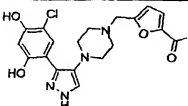
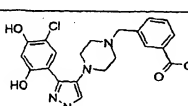
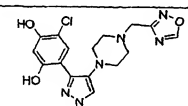
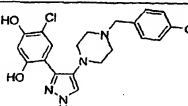
10

20

30

【 0 0 7 8 】

【表 3 - 2】

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
14		353	A
15		434	A
16		444	A
17		378	A
18		420	A

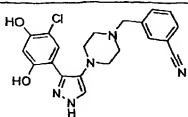
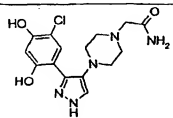
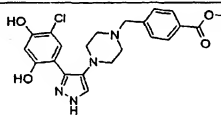
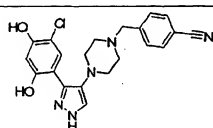
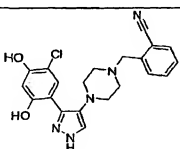
10

20

30

40

〔表 3 - 3 〕

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
19		411	A
20		353	A
21		444	A
22		411	A
23		411	A

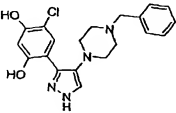
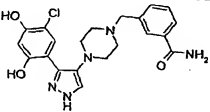
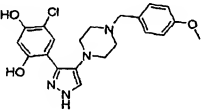
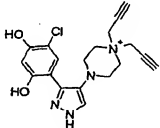
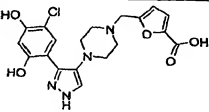
10

20

30

40

〔表 3 - 4〕

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
24		386	A
25		429	A
26		416	A
27		373	A
28		420	A

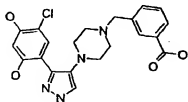
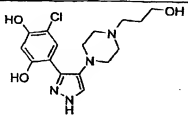
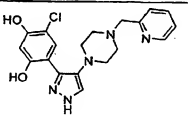
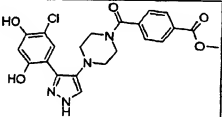
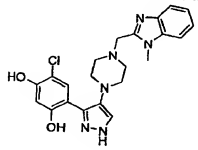
10

20

30

40

[ 表 3 - 5 ]

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
29		430	A
30		354	A
31		387	A
32		458	B
33		439	B

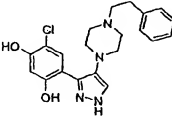
10

20

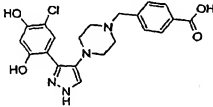
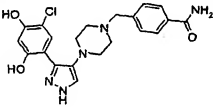
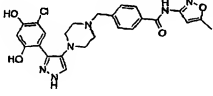
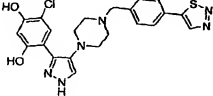
30

40

〔表 3 - 6 〕

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
34		399	A

10

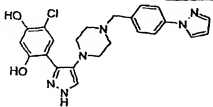
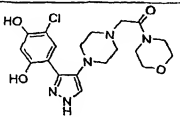
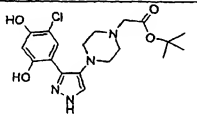
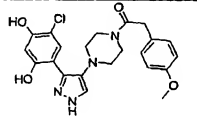
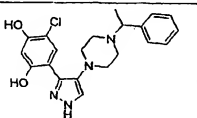
実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
35		429	A
36		428	A
37		509	A
38		489	A

20

30

40

〔表 3 - 7 〕

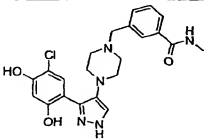
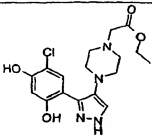
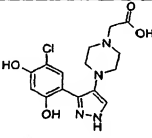
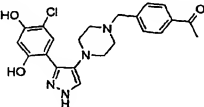
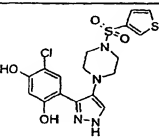
実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
39		451	A
40		422	A
41		409	B
42		442	B*
43		399	A

10

20

30

〔表 3 - 8 〕

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
44		442	A*
45		381	A*
46		353	A*
47		427	A*
48		441	A*

\* F P 評価で試験

10

20

30

40

〔 0 0 8 5 〕

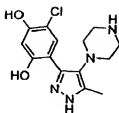
実施例 49

4-クロロ-6-(5-メチル-4-ピペラジン-1-イル-1H-ピラゾール-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオ 50



ー ル

【化 2 5】

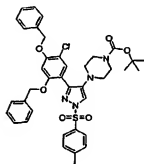


10

## 工程 1

4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1-(トルエン-4-スルホニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル

【化 2 6】



20

【0 0 8 6】

パラトルエンスルホニルクロライド (180mg、0.95mmol) を、ジクロロメタン (10ml) およびピリジン (0.9mmol) 中の 4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル (500mg、0.9mmol) の攪拌溶液に加えた。攪拌を18時間続け、次いで溶液を水 (20ml) と酢酸エチル (2×20ml) との間で分配する。有機相を合わせ、硫酸マグネシウムで乾燥し、真空下に濃縮して黄色の油状物を得た。ヘキサン、次いでヘキサン:ジエチルエーテル、1:1、次いでジエチルエーテルで溶出するシリカ (20g) で精製し、4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-1-(トルエン-4-スルホニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル (490mg、77%) を得た。

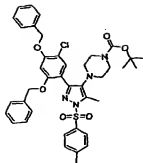
LC保持時間 3.22分間 [M]<sup>+</sup> 729.6 (実行時間 3.75分間)

【0 0 8 7】

## 工程 2

4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロ-フェニル)-5-メチル-1-(トルエン-4-スルホニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル

【化 2 7】



窒素雰囲気下、*n*-ブチルリチウム(ヘキサン中1.6M; 0.25ml、0.4mmol)を、テトラヒドロフラン(2ml)中の4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロフェニル)-1-(トルエン-4-スルホニル)-1*H*-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチルエステル(240mg、0.33mmol)の溶液に、攪拌、冷却(-78℃)下に滴下した。混合物を-78℃で10分間攪拌し、次いでヨウ化メチル(40μl; 0.64mmol)を加えた。反応混合物を室温まで暖め、次いで水(20ml)と酢酸エチル(2×20ml)との間で分配した。有機相を合わせ、硫酸マグネシウムで乾燥し、次いで真空中に濃縮し、ヘキサン、次いでヘキサン:ジエチルエーテル(1:1)、次いでジエチルエーテルで溶出するシリカカートリッジ(200mg)で精製して、4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロフェニル)-5-メチル-1-(トルエン-4-スルホニル)-1*H*-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチルエステル(70mg; 29%)を得た。LC保持時間3.26分間[M]<sup>+</sup> 743.6 (実行時間3.75分間)

最終生成物は、実施例1の方法Bを使って得られ、Hsp90 FP評価で活性「A」を有していた。

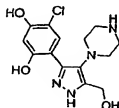
【 0 0 8 8 】

実施例50

4-クロロ-6-(5-ヒドロキシメチル-4-ピペラジン-1-イル-1*H*-ピラゾール-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオール

【化 2 8】

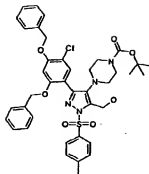
30



工程 1

4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロフェニル)-5-ヒドロキシメチル-1-(トルエン-4-スルホニル)-1*H*-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 *tert*-ブチルエステル 40

【化 2 9】



10

【 0 0 8 9 】

窒素雰囲気下、水素化リチウムアルミニウム（エーテル中 1 M、0.3 ml、0.3 mmol）の溶液を、無水ジエチルエーテル（2 ml）中の 4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロフェニル)-5-イソプロキシカルボニル-1-(トルエン-4-スルホニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル（90 mg、0.11 mmol）〔前記実施例中のリチオ化の化学反応を用いて製造された〕の攪拌溶液に、室温で滴下した。懸濁液を 2 時間攪拌し、次いで水酸化ナトリウム溶液（1 M、3 滴）、次いでメタノール（0.5 ml）を加えた。混合物を水（30 ml）と酢酸エチル（2 × 20 ml）の間で分配し、有機相を合わせ、硫酸マグネシウムで乾燥し、次いで真空中に濃縮して、4-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-クロロフェニル)-5-ヒドロキシメチル-1-(トルエン-4-スルホニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸 tert-ブチルエステル（58 mg、88%）を得た。  
LC 保持時間 2.87 分間 [M]<sup>+</sup> 605.6 （実行時間 3.75 分間）

工程 2

最終生成物は、実施例 1 の方法 B を用いて得られた。

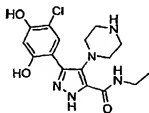
この化合物は、Hsp90 FP 評価で活性「A」を有していた。

【 0 0 9 0 】

実施例 51

5-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシフェニル)-4-ピペラジン-1-イル-2H-ピラゾール-3-カルボン酸エチルアミド

【化 3 0】



40

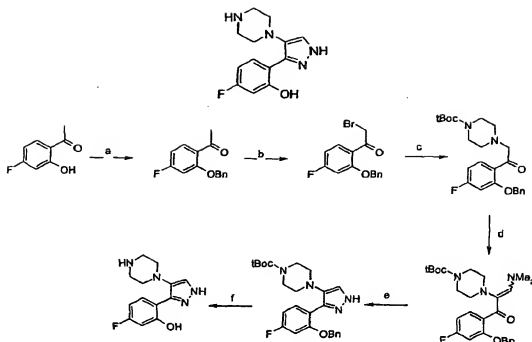
実施例 52 および 53 中のリチオ化の化学反応によるが、エチルイソシアネートでクエンチすることにより製造した。実施例 54 の化合物は、Hsp90 ATPase 評価で活性「A」を有していた。

【 0 0 9 1 】

実施例 52

3-(4-フルオロ-2-ヒドロキシフェニル)-4-(ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール

【化 3 1】



試薬および条件：a. BnBr,  $K_2CO_3$ , DMF, rt, 18時間；b.  $PhNMe_2Br$ , THF, rt, 45分間；c.  $t$ -Boc-ピペラジン,  $K_2CO_3$ , DMF, 80% (2工程)；d. DMFDMA,  $\mu$ -ウェーブ 200℃, 15分間；e.  $NH_2NH_2 \cdot H_2O$ , EtOH,  $\mu$ -ウェーブ, 120℃, 30分間, 33% (2工程)；f.  $BCl_3$ , DCM, 30%

【 0 0 9 2】

工程 1

2'-(ベンジルオキシ)-4'-フルオロアセトフェノン

炭酸カリウム (4.02g, 29.10mmol) を、DMF (15mL) 中の 4'-フルオロ-2'-ヒドロキシアセトフェノン (2.0mL, 2.56g, 16.60mmol) の溶液に加えた。ベンジルブロマイド (2.07mL, 2.98 g, 17.50mmol) を、室温で5分間かけて滴下し、混合物を18時間攪拌した。混合物を塩酸 (水中1.0M; 200mL) に注入し、酢酸エチル (2×100mL) で抽出した。有機抽出液を合わせ、乾燥 ( $MgSO_4$  で) し、溶媒を真空中に除去した。ヘキサンで粉砕後に、純 2'-(ベンジルオキシ)-4'-フルオロアセトフェノン (3.94g, 97%) を白色の粉末として得た。R<sub>f</sub> 0.44 (9:1 ヘキサン: EtOAc)；

$\delta$ <sub>H</sub> (CDCl<sub>3</sub>) 7.82 (1H, dd, J=8.6および7.0Hz), 7.43-7.38 (5H, m), 6.75-6.69 (2H, m), 5.13 (2H, s), 2.56 (3H, d, J=3.2Hz)；

LCMS保持時間 2.68分間、M+H<sup>+</sup> 245.1

【 0 0 9 3】

工程 2

2'-(ベンジルオキシ)-2-ブromo-4'-フルオロアセトフェノン

フェニルトリメチルアンモニウムトリブロマイド (1.55g, 4.13mmol) を、THF (10mL) 中の 2'-(ベンジルオキシ)-4'-フルオロアセトフェノン (1.01g, 4.13mmol) の溶液に加え、混合物を室温で45分間攪拌した。その間、次第に橙色溶液が退色し、白色の沈殿が生じた。TLC分析 (9:1 ヘキサン: EtOAc) が、反応の終了を示した。混合物を水 (20mL) に注入し、エーテル (2×50mL) で抽出した。エーテル抽出液を合わせ、乾燥 ( $MgSO_4$  で) し、溶媒を真空中に除去して、粗 2'-(ベンジルオキシ)-2-ブromo-4'-フルオロアセトフェノンを無色の油状物として得、これを精製することなく、次の工程に使用した。R<sub>f</sub> 0.47 (9:1 ヘキサン: EtOAc)；

$\delta$ <sub>H</sub> (CDCl<sub>3</sub>) 7.89 (1H, dd, J=9.4および6.9Hz), 7.45-7.40 (5H, m), 6.77-6.74 (2H, m), 5

10

20

40

50

.15(2H, s), 4.47(2H, s);

LCMS保持時間2.75分間、M+H<sup>+</sup> 323.3/325.3

[ 0 0 9 4 ]

#### 工程 3

2'-(ベンジルオキシ)-2-[4-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]-4'-フルオロアセトフェノン

1-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジン(808mg、4.34mmol)を、DMF中の2'-(ベンジルオキシ)-2-ブromo-4'-フルオロアセトフェノン(4.13mmolと思われる)および炭酸カリウム(856mg、6.20mmol)の混合物に加え、室温で18時間攪拌した。溶媒を真空下に除去し、残渣を酢酸エチル(150mL)中に採取し、水(100mL)および塩水(100mL)で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO<sub>4</sub>で)し、溶媒を真空下に除去した。粗生成物を、ヘキサン:EtOAc(9:1)、次いでヘキサン:EtOAc(1:1)で溶出するフラッシュクロマトグラフで精製して、純2'-(ベンジルオキシ)-2-[4-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]-4'-フルオロアセトフェノン(1.42g、2工程で80%)を黄色の油状物として得た。R<sub>f</sub>0.00(9:1ヘキサン:EtOAc)、0.50(1:1ヘキサン:EtOAc);

δ<sub>H</sub>(CDCl<sub>3</sub>) 7.89(1H, dd, J=9.3および6.9Hz), 7.48-7.44(5H, m), 6.81-6.77(2H, m), 5.17(2H, s), 3.79(2H, s), 3.51-3.47(4H, m), 2.44-2.41(4H, m), 1.50(9H, s);

LCMS保持時間2.10分間、M+H<sup>+</sup> 429.4

[ 0 0 9 5 ]

#### 工程 4

3-[4-フルオロ-2-(ベンジルオキシ)フェニル]-4-[4-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]-1H-ピラゾール

ジメチルホルムアミドジエチルアセタール(1.5mL)中の2'-(ベンジルオキシ)-2-[4-(tert-ブトキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]-4'-フルオロアセトフェノン(270mg、0.63mmol)の溶液を、密封されたマイクロウェーブ管の中で200℃で15分間加熱した。白色沈殿が生じた。混合物を真空下に乾燥するまで蒸発させて、粗4-[1-(2-ベンジルオキシ-4-フルオロベンゾイル)-2-ジメチルアミノ-ビニル]-ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチルエステルを得た。エタノール(2mL)およびヒドラジン水(2.0mL)を加え、混合物を密封されたマイクロウェーブ管の中で120℃で30分間加熱した。粗混合物を、乾燥プレバックシリカカートリッジ上に充填し、一晚乾燥した。生成物をヘキサン:EtOAc(2:1)で溶出し、4-[3-(2-ベンジルオキシ-4-フルオロフェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチルエステル(95mg、33%)を黄色のゴム状物質として得た。LCMS保持時間2.75分間、M+H<sup>+</sup> 453.4

[ 0 0 9 6 ]

#### 工程 5

3-(4-フルオロ-2-ヒドロキシフェニル)-4-(ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール

ボントロクロライド(DCM中1.0M; 0.829mL、0.829mmol)を、DCM(7.5mL)中の4-[3-(2-ベンジルオキシ-4-フルオロフェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸tert-ブチルエステル(75mg、0.166mmol)の溶液に加えた。褐色の沈殿が生じた。混合物を室温で1時間攪拌し、次いで重炭酸ナトリウム飽和水溶液(50mL)中に注入し、DCM(3×50mL)で抽出した。有機層を合わせ、乾燥(MgSO<sub>4</sub>で)し、溶媒を真空下に除去した。生成物をプレパラティブHPLCで精製し、3-(4-フルオロ-2-ヒドロキシフェニル)-4-(ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール(13mg、30%)をオフホワイトの固体として得た。

δ<sub>H</sub>(MeOH-d<sub>4</sub>) 7.96(1H, br s), 7.72(1H, s), 6.71-6.64(2H, m), 3.36-3.33(4H, m), 3.31-3.10(4H, m), 2.65(1H, s);

LCMS保持時間1.46分間、M+H<sup>+</sup> 263.2

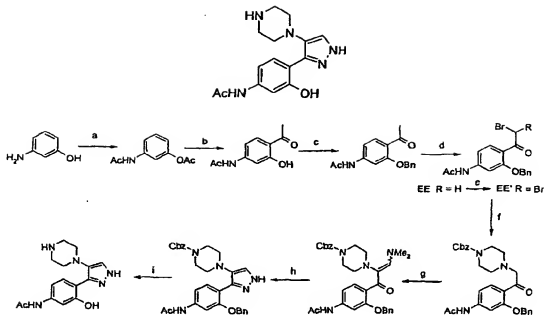
この実施例52の化合物は、Hsp90 ATPase評価で活性「B」を有していた。

[ 0 0 9 7 ]

#### 実施例 53

3-[4-アセタミド-2-ヒドロキシフェニル]-4-(ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール

[ 化 3 2 ]



試薬および条件：a. AcCl, pyr, DCM, 96%；b. AlCl<sub>3</sub>, 180℃, 73%；c. BnBr, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 65%；d. PhNMe<sub>2</sub>Br, THF, EE95またはEE' 100%；e. (EtO), Ph, Et, N, THF, > 100% (不純)；f. Cbz-ピペラジン, DMF, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 50%；g. DMFDMA, THF；h. 添加 NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> · xH<sub>2</sub>O, MeOH, 98%；i. H<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH, 41%

【 0 0 9 8 】

## 工程 1

## 3-アセタミドフェニルアセテート

ピリジン (46.32mL, 45.30g, 572mmol) を、DCM (200mL) 中の 3-アミノフェノール (25.0g, 229mmol) 攪拌懸濁液に加え、混合物を 0℃ に冷却した。DCM (100mL) 中の塩化アセチル (14.45mL, 15.95g, 203.21mmol) の溶液を、等圧滴下ロート (pressure-equalising dropping funnel) から 2.5 時間かけて混合物に滴下し (注意：発熱)、この混合物を 0℃ でさらに 1 時間攪拌した。混合物を HCl (水中 1.0M; 350mL) 中に注入し、層分離した。水層をさらに DCM (150mL) で抽出し、有機層を合わせ、乾燥 (MgSO<sub>4</sub>) し、溶媒を真空下に除去した。粗生成物を 40℃、150mbar で 18 時間さらに乾燥して、3-アセタミドフェニルアセテート (42.5g, 96%) を白色の固体として得た。

$\delta$  (CDCl<sub>3</sub>) 7.38 (1H, br s), 7.45 (1H, t, J=2.0Hz), 7.23 (1H, t, J=8.1Hz), 7.14-7.11 (1H, m), 6.78-6.76 (1H, m), 2.28 (3H, s), 2.06 (3H, s);

LCMS 保持時間 1.76 分間, M+H<sup>+</sup> 194.2

【 0 0 9 9 】

## 工程 2

## 4'-アセタミド-2'-ヒドロキシアセトフェノン

3-アセタミドフェニルアセテート (10.47g, 54.19mmol) を乳棒と乳鉢で微粉末になるまですりつぶし、次いで窒素供給に連結されたパウラーを装着した 250mL の丸底フラスコ中で AlCl<sub>3</sub> (14.45g, 108.40mmol) と混合した。混合物を溶融 (75℃) し、次いで激しい反応 (85℃) が起こるまで注意しながら加熱した (注意：気体の発生を伴う激しい発熱反応。備考：これらの工程が起こる温度は、いくらか変動する一示された温度は、観測された一番低いもので、最も高いものは、各工程で約 30℃ ほど高いものである)。混合物を室温まで冷却し、褐色の固体をスパーテルで粉砕した。次いで混合物を 180℃ で 4.25 時間加熱し、室温まで冷却した。固形物をスパーテルで粉砕し、氷-水 (100mL) を加えた。混合物を一晩激しく攪拌し、純粋な生成物をろ取した。生成物を減圧 (45℃、100mbar) で 18 時間乾

燥し、N-(4-アセチル-3-ヒドロキシ-フェニル)-アセタミド(7.66g, 73%)をオフホワイトの粉末として得た。

$\delta$  (DMSO-d<sub>6</sub>) 12.32(1H, s), 10.28(1H, s), 7.83(1H, d, J=8.8Hz), 7.35(1H, d, J=2.0 Hz), 7.05(1H, dd, J=8.8, 2.0Hz), 2.56(3H, s), 2.70(3H, s);

LCMS保持時間1.87分間、M+H<sup>+</sup> 194.2

[ 0 1 0 0 ]

### 工程 3

N-(4-アセチル-3-ベンジルオキシ-フェニル)-アセタミド

ベンジルトリプロマイド(4.84mL, 6.97g, 40.76mmol)を、DMF(175mL)中のN-(4-アセチル-3-ヒドロキシ-フェニル)-アセタミド(7.50g, 38.82mmol)およびCs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(25.30g, 77.64mmol) 10の混合物に、室温で5分間かけて加えた。18時間攪拌後、溶媒を真空下に除去し、残渣を水(200mL)およびDCM(200mL)と一緒に、完全に溶解するまで激しく攪拌した。層分離を行い、水層をDCM(2×200mL)でさらに抽出した。有機層を合わせ、乾燥(MgSO<sub>4</sub>で)し、溶媒を真空下に除去した。残渣をPhMe(150mL)中に採取し、乾燥するまで蒸発させると、結晶化した。混合物をPhMe(150mL)中に再懸濁し、活性炭(5g)と一緒に1時間還流した。熱溶液をろ過し、冷却させた。生成物をろ取して、N-(4-アセチル-3-ベンジルオキシ-フェニル)-アセタミド(5.79g, 53%)を無色の結晶として得た。

$\delta$  (CDCl<sub>3</sub>) 7.83(1H, m), 7.76(1H, d, J=8.5Hz), 7.58(1H, br s), 7.45-7.32(6H, m), 6.74(1H, dd, J=8.5, 1.9Hz), 5.15(2H, s), 2.56(3H, s), 2.19(3H, s);

LCMS保持時間2.33分間、M+H<sup>+</sup> 284.3

[ 0 1 0 1 ]

### 工程 4

N-[3-ベンジルオキシ-4-(2,2-ジブプロモ-アセチル)-フェニル]-アセタミド

フェニルトリメチルアンモニウムトリプロマイド(102mg, 0.272mmol)を、THF(3.5mL) 中のN-(4-アセチル-3-ベンジルオキシ-フェニル)-アセタミド(53mg, 0.124mmol)の溶液に加え、室温で2時間攪拌した。混合物を水(25mL)とEtOAc(25mL)の間で分配し、層分離し、有機層を乾燥(MgSO<sub>4</sub>で)した。溶媒を真空下に除去して、粗N-[3-ベンジルオキシ-4-(2,2-ジブプロモ-アセチル)-フェニル]-アセタミド(54mg, 100%)を淡褐色の固体として得た。

$\delta$  (CDCl<sub>3</sub>) 7.92(1H, br s), 7.85(1H, d, J=8.5Hz), 7.55(1H, br s), 7.50-7.35(5H, m), 7.09(1H, s), 6.78(1H, dd, J=8.5, 1.9Hz), 5.20(2H, s), 2.21(3H, s);

LCMS保持時間2.65分間、M+H<sup>+</sup> 440.1/442.1/444.1

混合物を未精製のまま、次の工程で使用した。

[ 0 1 0 2 ]

### 工程 5

N-[3-ベンジルオキシ-4-(2-ブプロモ-アセチル)-フェニル]-アセタミド

#### 方法 A

フェニルトリメチルアンモニウムトリプロマイド(241mg, 0.641mmol)を、THF(16mL) 中のN-(4-アセチル-3-ベンジルオキシ-フェニル)-アセタミド(165mg, 0.582mmol)の攪拌溶液に加え、室温で2時間攪拌した。反応混合物を水(50mL)中に注入し、エーテル(2×50mL)で抽出した。エーテル抽出液を合わせ、乾燥(MgSO<sub>4</sub>で)し、溶媒を真空下に除去して、粗N-[3-ベンジルオキシ-4-(2-ブプロモ-アセチル)-フェニル]-アセタミド(200mg, 95%)をオフ 40ホワイトの固体として得た。

$\delta$  (CDCl<sub>3</sub>) 7.98(1H, br s), 7.92(1H, br s), 7.81(1H, d, J=8.5Hz), 7.49-7.32(5H, m), 6.82(1H, dd, J=8.5, 1.9Hz), 5.16(2H, s), 4.50(2H, s), 2.20(3H, s);

LCMS保持時間2.52分間、M+H<sup>+</sup> 362.2/364.2

粗生成物には、少量の出発物質および対応するジブプロモ化合物が混入していたが、工程 6で使用するには十分にきれいであった。

[ 0 1 0 3 ]

#### 方法 B

THF(0.1mL)中のジエチルホスファイト(12.6μL, 13.5mg, 97.6μmol)およびトリエチル 50

アミン(13.6 $\mu$ L、9.9mg、97.6 $\mu$ mol)の溶液を、THF(1.5mL)中のN-[3-ベンジルオキシ-4-(2,2-ジブromo-アセチル)-フェニル]-アセタミド(41mg、92.9 $\mu$ mol)の撹拌溶液に室温で加え、反応混合物を2時間撹拌した。混合物をEtOAc(20mL)中に注入し、水(20mL)および塩水(20mL)で洗浄した。有機層を乾燥(MgSO<sub>4</sub>で)し、溶媒を真空下に除去して、N-[3-ベンジルオキシ-4-(2-ブromo-アセチル)-フェニル]-アセタミド(40mg、>100%)を得た。これには、ジエチルボスファイト由来の不純物が混入していることがNMRより分かった。この生成物は、さらに精製することなく、次の工程で正常に使用できた。全分析データは上に報告されたとおりであった。

【 0 1 0 4 】

#### 工程 6

10

4'-アセタミド-2'-ベンジルオキシ-2-[4-(ベンジルオキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]アセトフェノン

1-(ベンジルオキシカルボニル)ピペラジン(117 $\mu$ L、134mg、0.607mmol)を、DMF(5mL)中のN-[3-ベンジルオキシ-4-(2-ブromo-アセチル)-フェニル]-アセタミド(200mg、0.552mmol)および炭酸カリウム(115mg、0.828mmol)の混合物に加え、室温で18時間撹拌した。溶媒を真空下に除去し、塩水(25mL)中に採取した。水溶液をDCM(3 $\times$ 25mL)で抽出し、有機層を合わせ、乾燥(MgSO<sub>4</sub>で)した。溶媒を真空下に除去し、生成物をプレパラティブHPLCで精製して、純4'-アセタミド-2'-ベンジルオキシ-2-[4-(ベンジルオキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]アセトフェノン(114mg、41%、50% rec.)をオフホワイトの固体として得た。 $\delta$ <sub>H</sub>(CDCl<sub>3</sub>) 8.23(1H, br s), 7.81(1H, d, J=8.6Hz), 7.77-7.76(1H, m), 7.53-7.51(2H 20, m), 7.42-7.28(8H, m), 7.08(1H, dd, J=8.6, 1.8Hz), 5.20(2H, s), 5.12(2H, s), 4.00(2H, s), 3.59-3.48(4H, m), 2.65-2.60(4H, m), 2.14(3H, s);

LCMS保持時間2.07分間、M+H<sup>+</sup> 502.5 回収されたN-(4-アセチル-3-ベンジルオキシフェニル)-アセタミド(35mg)を併せて。

【 0 1 0 5 】

#### 工程 7

3-[4-アセタミド-2-ベンジルオキシフェニル]-4-[4-(ベンジルオキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]-1H-ピラゾール

乾燥THF(0.5mL)中の4'-アセタミド-2'-ベンジルオキシ-2-[4-(ベンジルオキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]アセトフェノン(68mg、135.6 $\mu$ mol)およびジメチルホルムアミド 30ジメチルアセタール(90 $\mu$ L、81mg、677.9 $\mu$ mol)の溶液をマイクロウェーブ管中に密封し、120℃で65分間加熱した。THF(0.5mL)中のジメチルホルムアミドジメチルアセタール(90 $\mu$ L、81mg、677.9 $\mu$ mol)をさらに加え、管を再度120℃で40分間加熱した。

得られた粗4-[1-(4-アセチルアミノ-2-ベンジルオキシベンゾイル)-2-ジメチルアミノ-ピニル]-ピペラジン-1-カルボン酸ベンジルエステルの溶液に、ヒドラジン水合物(0.75mL)およびMeOH(0.75mL)を加えて混合物を単相にし、この混合物を室温で3日間撹拌した。揮発性物質を真空下に除去し、残渣を50%飽和塩水(100mL)中に注入した。生成物をEtOAc(3 $\times$ 100mL)で抽出し、有機層を合わせ、乾燥(MgSO<sub>4</sub>で)し、溶媒を真空下に除去して、粗3-[4-アセタミド-2-ベンジルオキシフェニル]-4-[4-(ベンジルオキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]-1H-ピラゾール(70mg、98%)を黄色のゴム状物質として得た。

40

LCMS保持時間2.48分間、M+H<sup>+</sup> 526.5

【 0 1 0 6 】

#### 工程 8

3-[4-アセタミド-2-ヒドロキシフェニル]-4-(ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール

MeOH(7mL)中の3-[4-アセタミド-2-ベンジルオキシフェニル]-4-[4-(ベンジルオキシカルボニル)ピペラジン-1-イル]-1H-ピラゾール(70mg、133.2 $\mu$ mol)の溶液を脱気(3 $\times$ 真空/窒素)し、パラジウム(炭素上10%; 10mg、触媒)を加えた。反応混合物を再度脱気(3 $\times$ 真空/窒素)し、雰囲気水を素で置き換えた(3 $\times$ 真空/水素)。混合物を室温で18時間撹拌した。触媒を少量のセライトパッドによりろ別し、さらにMeOH(15mL)で洗浄した。溶媒を真空下に除去し、粗生成物を得、これをプレパラティブHPLCで精製して、3-[4-アセタミ 50



ド-2-ヒドロキシフェニル]-4-(ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール (16.3mg, 41%) を白色の固体として得た。

$\delta_{\text{H}}$  (MeOH- $d_4$ ) 8.47 (1H, s), 7.80 (1H, br s), 7.68 (1H, s), 7.26 (1H, s), 7.11 (1H, dd,  $J=8.5, 2.1$ Hz), 3.34-3.29 (4H, m), 3.11-3.07 (4H, m), 2.12 (3H, s);

LCMS保持時間1.26分間、 $M+H^+$  302.3

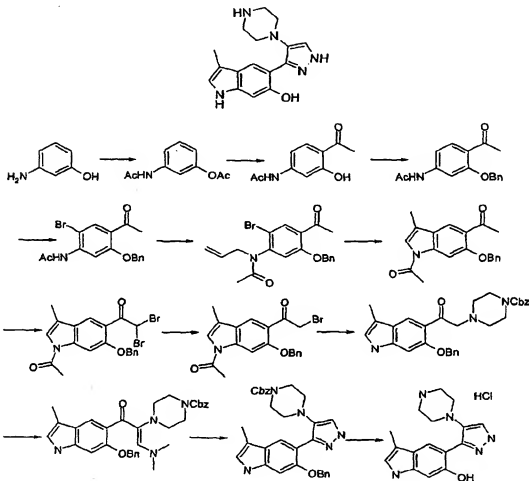
この実施例53の化合物は、Hsp90 FP結合評価で活性「B」を有していた。

【 0 1 0 7 】

#### 実施例 54

3-メチル-5-(4-(ピペラジン-1-イル)-1H-ピラゾール-3-イル)-1H-インドール-6-オール  
【化 3 3】

10



20

30

#### 工程 1

N-(4-アセチル-3-ヒドロキシフェニル)-アセタミド

40

酢酸3-アセチルアミノフェニルエステル (5.0g, 25.9mmol) をすりつぶして微粉末とし、次いで丸底フラスコ中で $AlCl_3$ と混合した。窒素を勢よく流した後、フラスコを95℃に加熱し、発煙反応が終了するまでこの温度を保った。反応混合物を室温まで冷却し、褐色固体を粉状に粉砕した。次いで反応混合物を180℃に再加熱した。4時間後、反応混合物を室温まで冷却し、粉砕して粉状にした。氷水 (100ml) を加え、反応混合物を一晩攪拌した。生成物をろ過し、水で洗浄し、乾燥して、褐色の固体 (2.57g, 51.4%) を得た。

LC/MS: RT=1.864分間194(MH $^+$ )

【 0 1 0 8 】

#### 工程 2

N-(4-アセチル-3-ベンジルオキシフェニル)-アセタミド

50

N-(4-アセチル-3-ヒドロキシ-フェニル)-アセタミド (2.57g, 13.3mmol) を DMF (60ml) 中に懸濁し、次いで  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (8.70g, 26.7mmol) およびベンジルブロマイド (1.7ml, 14mmol) を順次加えた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。溶媒を真空下に除去し、油状の残渣を  $\text{DCM}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1) 中で攪拌した。有機層を水で洗浄し、乾燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で) し、ヘキサンからヘキサン/ $\text{EtOAc}$  (1:1) の勾配でのカラムクロマトグラフで精製して、ベンジルエステルをクリーム色の固体 (1.25g, 33%) として得た。

LC/MS: RT=2.307分間 284 (MH<sup>+</sup>)

[ 0 1 0 9 ]

#### 工程 3

N-(4-アセチル-5-ベンジルオキシ-2-プロモ-フェニル)-アセタミド

10

N-ブロモスクシンイミド (0.756g, 4.27mmol) を、DMF (24ml) 中の N-(4-アセチル-3-ベンジルオキシ-フェニル)-アセタミド (1.2g, 4.24mmol) の溶液中に少しずつ加え、反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物を DCM で希釈し、水で洗浄し、 $\text{MgSO}_4$  で乾燥して、白色の固体 (1.03g, 67%) を得た。

LC/MS: RT=2.609分間 362/364 (MH<sup>+</sup>)

[ 0 1 1 0 ]

#### 工程 4

N-(4-アセチル-5-ベンジルオキシ-2-プロモ-フェニル)-N-アリル-アセタミド

窒素下に無水 THF (20ml) 中の N-(4-アセチル-5-ベンジルオキシ-2-プロモ-フェニル)-アセタミド (1.03g, 2.85mmol) の溶液を -78℃ に冷却し、次いで LDA (2.1ml, 2M 溶液, 4.3mmol) を滴下した。反応混合物を -78℃ で 1 時間攪拌し続け、次いでアリルブロマイド (0.44ml, 2.85mmol) でクエンチした。反応混合物を室温まで暖め、一晩攪拌を続けた。溶液を  $\text{EtOAc}$  と水の間で分配した。有機層を集め、水、塩水で洗浄し、次いで乾燥 ( $\text{MgSO}_4$  で) した。ヘキサン/ $\text{EtOAc}$  (1:1) でのカラムクロマトグラフで精製し、白色の固体 (0.662g, 58%) を得た。

LC/MS: RT=2.703分間 402/404 (MH<sup>+</sup>)

[ 0 1 1 1 ]

#### 工程 5

1-(1-アセチル-6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-エタノン

$\text{MeCN}$  (15ml) 中の N-(4-アセチル-5-ベンジルオキシ-2-プロモ-フェニル)-N-アリル-アセタミド (0.662g, 1.65mmol)、P(o-トリル)<sub>3</sub> (0.028g, 0.092mmol) およびトリエチルアミン (0.34ml, 2.24mmol) の溶液を窒素で勢よく流し、次いで  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (0.005g) を加えた。反応混合物を 150℃ で 500 秒間、マイクロウェーブで加熱した。粗混合物を  $\text{EtOAc}$  で希釈し、水で洗浄し、 $\text{MgSO}_4$  で乾燥した。ヘキサン/ $\text{EtOAc}$  (1:1) でのカラムクロマトグラフで精製し、クリーム色の固体 (0.283g, 54%) を得た。

LC/MS: RT=2.742分間 322 (MH<sup>+</sup>)、344 (MNa<sup>+</sup>)、280 (MH<sup>+</sup>-Ac)

[ 0 1 1 2 ]

#### 工程 6

1-(1-アセチル-6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-2,2-ジプロモ-エタノン

40

無水 THF (6ml) 中の 1-(1-アセチル-6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-エタノン (0.283g, 0.88mmol) の溶液に  $\text{PhNMe}_2\text{Br}$  (0.497g, 2.3mmol) を加えた。反応混合物を室温で 1 時間攪拌した。溶液を水で希釈し、有機物を  $\text{Et}_2\text{O}$  で抽出し、 $\text{MgSO}_4$  で乾燥して、粗生成物 (0.420g, >90%) を得た。

LC/MS: RT=2.900分間 478/480 (MH<sup>+</sup>)

[ 0 1 1 3 ]

#### 工程 7

1-(1-アセチル-6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-2-プロモ-エタノン

粗生成物 1-(1-アセチル-6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-2,2-ジプロモ-エタノン (0.42g, 0.88mmol) を THF (4ml) 中に懸濁し、次いでトリエチルアミン (0.12m

50

1、0.89mmol)および(E10),P(O)H(0.137ml、0.88mmol)を加えた。室温で一晩攪拌後、反応混合物をE10Acで希釈し、水、塩水で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>で乾燥した。溶媒を真空下に除去し、粗生成物をヘキサン/E10Ac(1:1)でのカラムクロマトグラフで精製し、生成物(0.039g、11%)を得た。

LC/MS: RT=2.830分間 400/402(MH<sup>+</sup>)

[ 0 1 1 4 ]

工程 8

4-[2-(6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-2-オキソ-エチル]-ピペラジン-1-カルボン酸ベンジルエステル

化合物1-(1-アセチル-6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-2-プロモ- 10  
エタノール(0.039g、0.1mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.019g、0.14mmol)およびCbz-ピペラジン(0.026ml、0.1mmol)をDMF(2ml)中、室温で5時間攪拌した。溶媒を真空下に除去し、残渣をDCMに再溶解し、水、塩水で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>で乾燥した。ヘキサン/E10Ac(3:2)でのカラムクロマトグラフで精製して、生成物(0.008g、17%)を得た。

LC/MS: RT=2.236分間 498(MH<sup>+</sup>)

[ 0 1 1 5 ]

工程 9

4-[1-(6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-カルボニル)-2-ジメチルアミノ-ピニル]-ピペラジン-1-カルボン酸ベンジルエステル

DMFDMA(5ml)中の4-[2-(6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-2-オキソ- 20  
エチル]-ピペラジン-1-カルボン酸ベンジルエステル(0.661g、1.33mmol)の溶液を100℃で一晩加熱した。溶媒を真空下に除去し、粗生成物をヘキサン/E10Ac(1:1)でのカラムクロマトグラフで精製して、生成物(0.158g、22%)を得た。

LC/MS: RT=5.53分間 553(MH<sup>+</sup>)

[ 0 1 1 6 ]

工程 10

4-[3-(6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸ベンジルエステル

E10H中の4-[1-(6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-カルボニル)-2-ジメチル 30  
アミノ-ピニル]-ピペラジン-1-カルボン酸ベンジルエステル(0.158g、0.29mmol)およびヒドラン(0.75ml、15.5mmol)の溶液を1時間還流した。その間に反応は終了していた。溶媒を真空下に除去し、生成物をヘキサン/E10Ac(1:1)でのカラムクロマトグラフで精製して、オフホワイトの固体(0.0445g、30%)を得た。

LC/MS: RT=2.713分間 522(MH<sup>+</sup>)

[ 0 1 1 7 ]

工程 11

3-メチル-5-(4-ピペラジン-1-イル-1H-ピラゾール-3-イル)-1H-インドール-6-オール

MeOH(2ml)中の4-[3-(6-ベンジルオキシ-3-メチル-1H-インドール-5-イル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペラジン-1-カルボン酸ベンジルエステル(0.022g、0.042mmol)の溶液を排 40  
気して、窒素を勢いよく流した。この溶液に10%Pd/C(10mg)を加え、この懸濁液を排気して水を勢いよく流した。反応混合物を水素雰囲気下に室温で一晩振盪した。反応混合物をセライトでろ過し、溶媒を真空下に除去した。最終生成物をHCl/Et<sub>2</sub>Oで塩化し、エーテルで粉砕して、淡褐色の固体(0.0046g、33%)を得た。

LC/MS: 1.495分間 298(MH<sup>+</sup>)

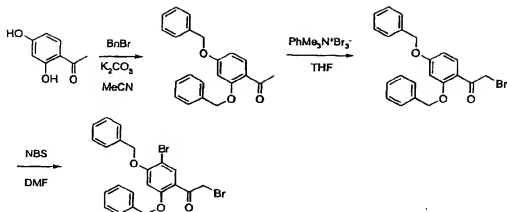
この実施例54の化合物は、Hsp90 FP結合評価で活性「B」を有していた。

[ 0 1 1 8 ]

臭素で置換されたレゾルシノール環を有している以下の実施例55~64の化合物は、スキーム1と同様にして、但し、実施例1の工程3の中間体のプロモ類似化合物を経て製造した。このプロモ中間体は、次のスキーム6により製造した。

スキーム 6

【化 3 4】

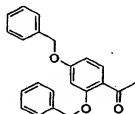


10

工程 1

1-(2,4-ビス-ベンジルオキシフェニル)-エタノン

【化 3 5】



20

ベンジルブロマイド (35.6mL、0.3mol) をアセトニトリル (150mL) 中の 2,4-ジヒドロキシアセトフェノン (15g、0.1mol) および炭酸カリウム (41.4g、0.3mol) の懸濁液に加え、混合物を一晚攪拌した。乾燥するまで濃縮後、残渣をジクロロメタン (100mL) に再懸濁し、水 (100mL) で洗浄した。有機相を硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮した。ヘキサンで粉砕し、ろ過し、真空下で乾燥して、1-(2,4-ビス-ベンジルオキシフェニル)-エタノンを白色の粉末 (26g) として得た。

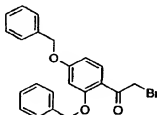
LC保持時間 2.83分間、 $[M+H]^+$  333.3 (実行時間 3.75分間)

【 0 1 1 9】

工程 2

1-(2,4-ビス-ベンジルオキシフェニル)-2-プロモ-エタノン

【化 3 6】



40

フェニルトリメチルアンモニウムトリプロマイド (5.6g、0.015mol) を、テトラヒドロフラン (50mL) 中の 1-(2,4-ビス-ベンジルオキシフェニル)-エタノン (5.0g、0.015mol) の攪拌溶液に少しずつ加え、混合物を 2 時間攪拌した。混合物を水 (50mL) とジエチルエーテル (2 × 50mL) の間で分配した。有機相を合わせ、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮して、1-(2,4-ビス-ベンジルオキシフェニル)-2-プロモ-エタノンをベージュ色の固体として得、これをさらに精製することなく使用した。

50

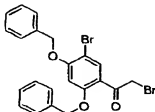
LC保持時間2.89分間、 $[M+H]^+$  411.2および413.2 (実行時間3.75分間)

【 0 1 2 0 】

工程 3

1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-ブロモ-フェニル)-2-ブロモ-エタノン

【化 3 7】



10

N-ブロモスクシンイミド (2.67g, 0.015mol) を、ジメチルホルムアミド (50ml) 中の粗 1-(2,4-ビス-ベンジルオキシフェニル)-2-ブロモ-エタノン (約 6.16g, 0.015mol) の攪拌溶液に加え、混合物を 18 時間攪拌した。混合物を乾燥するまで濃縮し、ジクロロメタン (50ml) に溶解し、水 (2×50ml) で洗浄した。有機相を合わせ、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮して、1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-ブロモ-フェニル)-2-ブロモ-エタノンを白色の固体として得、これをさらに精製することなく使用した。

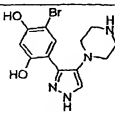
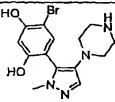
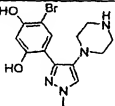
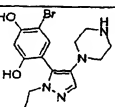
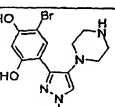
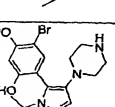
LC保持時間2.99分間、 $[M+Na]^+$  511.2、513.2および515.2 (実行時間3.75分間)

20

【 0 1 2 1 】

次の実施例の表において、「Hsp90 1C50」の欄中の記載は、以下に示したATPase評価で得られた結果である。

〔表 4 - 1 〕

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
55		339,341	B
56		353,355	B
57		353,355	B
58		367,369	B
59		367,369	B
60		381,383	B

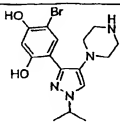
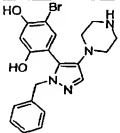
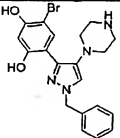
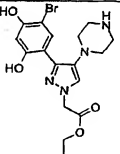
10

20

30

40

【表 4 - 2】

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
61		381,383	B
62		429,431	B
63		429,431	B
64		425,427	B

10

20

30

## 【 0 1 2 3 】

以下の実施例 65～76 の化合物は、実施例 55 の化合物を中間体として用いて製造した。例えば、実施例 70 の化合物は、以下のようにして製造し、実施例 65～69 および 71～76 の化合物は、同様にして製造した。

## 工程 1

スチリル中間体を生成するプロモ中間体のカップリング

n-ブタノール (1 当量当り 50 mL) 中の 4-ブロモ-6-(4-ビペラジン-1-イル-1H-ピラゾール-3-イル)-ベンゼン-1,3-ジオール (実施例 58) (1 当量)、4-フルオロスチレン (3 当量) および N,N-ジイソプロピルエチルアミン (3 当量) の混合物を脱気 (3×窒素/真空) した。ジクロロビス (トリ-o-トリルホスフィノ) パラジウム (II) (2 モル%) を加え、混合物を 15 時間加熱還流した。混合物を、少量のシリカ栓でろ過し、シリカをジクロロメタンで洗浄した。

50

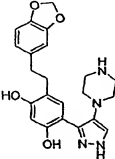
【 0 1 2 4 】

## 工程 2

フェネチル化合物への還元

酢酸ナトリウム(水中1.0M、3当量)の溶液を、1,2-DME中のアルケン(1当量)およびp-トルエンスルホンヒドライド(3当量)の還流溶液に2時間で滴下し、20時間還流を続けた。混合物を冷却し、水に注入し、ジクロロメタンで抽出した。抽出液を合わせ、乾燥(NgSO<sub>4</sub>で)し、真空下に濃縮した。粗生成物をフラッシュクロマトグラフで精製した。

【表 5 - 1】

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
65		409	A

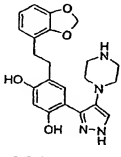
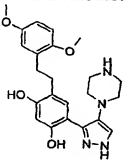
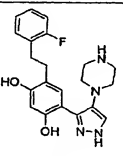
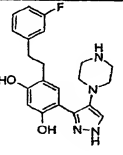
10

20

【 0 1 2 5 】



〔表 5 - 2 〕

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
66		409	A
67		425	A
68		383	A
69		383	A

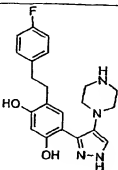
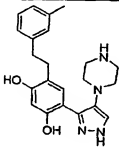
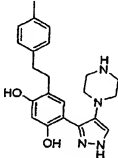
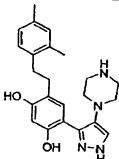
10

20

30

40

【表 5 - 3】

実施例	構造	MH+	Hsp90 IC50
70		383	A
71		379	A
72		379	A
73		393	A

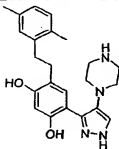
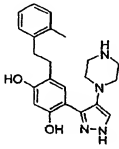
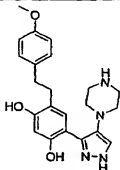
10

20

30

40

【表 5 - 4】

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
74		393	A
75		379	A
76		395	A

10

20

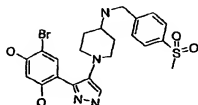
30

【 0 1 2 8 】

実施例 77

4-ブromo-6-[4-[4-(4-メタンシルホニル-ベンジルアミノ)-ピペリジン-1-イル]-1H-ピラゾール-3-イル]-ベンゼン-1,3-ジオール

【化 3 8】



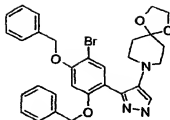
40

工程 1

8-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-ブromo-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-1,4-ジオキサ-8-アザ-スピロ[4.5]デカン

50

【化 3 9】



1-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-ブromo-フェニル)-2-ブromo-エタノン(上記のスキーム 10  
6 により製造)(15.56g, 31.74mmol)をジメチルホルムアミド(20ml)中に溶解した。1,4-ジ  
オキサ-8-アザ-スピロ[4.5]デカン(4.55g, 31.74mmol)およびトリエチルアミン(4.42ml、  
31.74mmol)を加え、反応混合物を室温で1時間攪拌した。溶媒を減圧下に除去した。残渣  
をジメチルホルムアミドジメチルアセタール(60ml, 452mmol)中に採取し、110℃で16時間  
攪拌した。反応混合物を室温まで冷却し、真空下に濃縮して、褐色の油状物を得た。これ  
をエタノール(100ml)およびヒドラジン水合物(23.8g, 476mmol)中に溶解し、16時間還流  
した。反応混合物を室温に冷却し、乾燥するまで蒸発させ、シリカゲルのフラッシュクロ  
マトグラフで精製した。生成物をエチルエーテル/ヘキサン(1:1)で溶出し、合わせた溶出  
画分を蒸発させ、残渣をジエチルエーテルで粉砕して、オフホワイトの固体(6.31g)を得  
た。

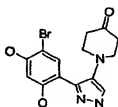
20

LC保持時間2.79分間[M+H]<sup>+</sup> 576.4および578.4(臭素分裂パターン) (実行時間3.75分間)  
【0129】

工程 2

1-[3-(5-ブromo-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピベリジン-4-オ  
ン

【化 4 0】



30

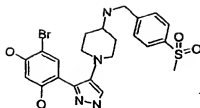
8-[3-(2,4-ビス-ベンジルオキシ-5-ブromo-フェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-1,4-ジ  
オキサ-8-アザ-スピロ[4.5]デカン(6.55g, 11.4mmol)をジクロロメタン(70ml)中に溶解し  
、0℃に冷却した。ポロントリクロライド(ジクロロメタン中1M, 57ml, 57mmol)を滴下し  
た。反応混合物を室温に暖め、30分間攪拌した。次いで0℃で水(50ml)でクエンチし、室  
温に暖め、3日間攪拌した。反応混合物を炭酸水素ナトリウム飽和水溶液でpH=7に中和し  
、淡褐色の沈殿物をろ取りし、水で洗浄し、次いで真空オーブン中で乾燥した(2.25g)。  
LC保持時間1.89分間[M+H]<sup>+</sup> 352.4および354.2(臭素分裂パターン) (実行時間3.75分間 40  
)

【0130】

工程 3

4-ブromo-6-[4-[4-(4-メタンスルホニル-ベンジルアミノ)-ピベリジン-1-イル]-1H-ピラ  
ゾール-3-イル]-ベンゼン-1,3-ジオール

【化 4 1】



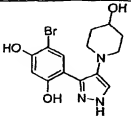
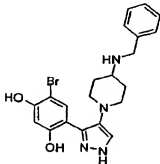
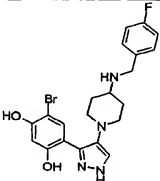
1-[3-(5-ブロモ-2,4-ジヒドロキシフェニル)-1H-ピラゾール-4-イル]-ピペリジン-4-  
 オン(0.1g、0.284mmol)をメタノール(3ml)中に溶解した。トリエチルアミン(0.044ml、0.  
 312mmol)および4-メタンスルホニル-ベンジルアミン塩酸塩(0.069g、0.312mmol)を加え、  
 反応混合物を室温で1時間攪拌した。過剰の水酸化ホウ素ナトリウムを加え、発泡が止ま  
 ってから溶媒を真空下に除去した。残渣をシリカのフラッシュクロマトグラフで精製した。  
 生成物をメタノール/ジクロロメタン(1:9)で溶出した。さらにHPLCによる精製を必要と  
 した。白色の固体(0.036g)を得た。

LC保持時間1.68分間[M+H]<sup>+</sup> 521.3および523.3(臭素分裂パターン) (実行時間3.75分間)

【0131】

実施例78～88の化合物は、実施例80の化合物と同様にして、適当なアミンの工程4中間  
 体との工程5における反応により製造された。再度、「Hsp90 IC50」の欄中の記載は、以  
 下に示したATPase分析で得られた結果である。

〔表 6 - 1〕

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
78		355, 357	B
79		444, 446	A
80		462, 464	A

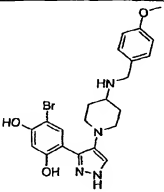
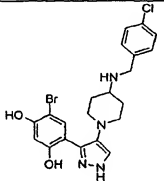
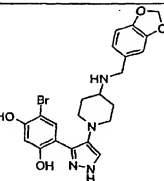
10

20

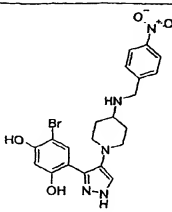
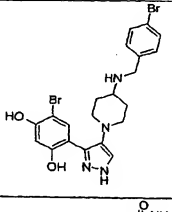
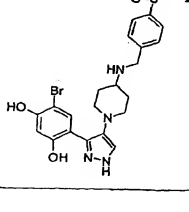
30

〔 0 1 3 2 〕

〔表 6 - 2 〕

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
81		474, 476	A
82		478, 480	A
83		488, 490	A

[ 表 6 - 3 ]

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
84		489, 491	A
85		523, 525	A
86		523, 525	A

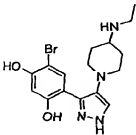
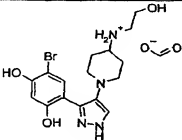
10

20

30



【表 6 - 4】

実施例	構 造	MH+	Hsp90 IC50
97		382, 384	A
98		399, 401	A

10

20

## 【 0 1 3 5 】

## 生物学的結果

Hsp90の内在性のATPase活性は、モデル系として酵母のHSP90を用いて測定され得る。無機ホスフェートの測定に対してマラカイトグリーンを用いる方法を基にした評価方法により、この実施例の化合物のHSP90阻害活性を試験した。

## 【 0 1 3 6 】

## マラカイトグリーンATPase分析

## 材料

化学薬品は市販品で最高純度のものであり、全ての水溶液はAR水を用いて調製される。無機ホスフェートの混入を最小限にする必要性から、分析に使用される溶液および装置に注意を払うべきである。ガラス製品およびpHメータは、2度蒸留された水または脱イオンされた水で使用前に洗浄され、可能な限りどんな場合でも、プラスチック製品を使用すべきである。全ての操作に対して手袋を着用した。

(1) グライナー384-ウェル (Greiner 781101) または コスター 384-ウェル 平底ポリスチレンマルチウェルプレート (VWR)

(2) (a) 100mM Tris-HCl, pH7.4 (b) 150mM KCl (c) 6mM MgCl<sub>2</sub> の分析緩衝液、室温で貯蔵

(3) 0.0812% (w/v) マラカイトグリーン (M 9636, シグマアルドリッチ社, Poole, UK)、室温で貯蔵

(4) 沸騰水中で 2.32% (w/v) ポリビニルアルコール USP (P 1097, シグマアルドリッチ社, Poole, UK) (コメント 1 参照)、冷却して室温で貯蔵

(5) 6M 塩酸中 5.72% (w/v) モリブデン酸アンモニウム、室温で貯蔵

(6) 34% (w/v) クエン酸ナトリウム、室温で貯蔵

(7) 100mM ATP 2 ナトリウム塩、特別品質 (47699, シグマアルドリッチ)、-20℃で貯蔵

(8) E.coli により発現された酵母 HSP90 蛋白質、95% 以上に精製し (例えば、Panaretou ら、1998 参照)、50 μL に分制して -80℃ で貯蔵

## 【 0 1 3 7 】

## 方法

30

40

50

1. 試験化合物をAR水中500 $\mu$ Mに希釈 (DMSO濃度は2.5%である)。これらの化合物の2.5 $\mu$ lを直接、娘プレートから分析プレートへ移し、最終分析濃度を100 $\mu$ Mにする。12ポイントのIC50値を得るために、1:2の連続希釈を行い100 $\mu$ Mから97.6nMの範囲の分析濃度(2.5% DMSO)を作成し、各濃度の2.5 $\mu$ lを分析プレートへ移した。分析プレートの列1は、ネガティブコントロールとして化合物を含まないものとする。化合物を含まないさらなる行を、バックグラウンドとしても使用する。
2. ATPの100mM貯蔵液を分析緩衝液で925 $\mu$ Mに希釈して調製し、対照を含んだ各ウェルに、希釈されたATPの5 $\mu$ lずつを分割する (最終分析濃度370 $\mu$ M)。
3. 緩衝液の5 $\mu$ lをバックグラウンドの行に加える。
4. 分析緩衝液で酵素試薬を1.05 $\mu$ Mに希釈し、5 $\mu$ lずつ各化合物ウェルおよびネガティブコントロールの列に分割する。
5. ウェルの底に試薬を集め、プレートシールでプレートを覆い、37℃で一晩インキュベートする。
6. 朝一番にマラカイトグリーン試薬を調製する。マラカイトグリーン溶液の2部、ポリビニルアルコール溶液の1部、モリブデン酸アンモニウム溶液の1部そしてAR水の2部を加える。
7. 逆さまにして混合し、色が褐色から山吹色に変わるまで、約1時間放置する。
8. マラカイトグリーン試薬の40 $\mu$ lを各ウェルに加え、色が生じるように5分間放置する。
9. クエン酸ナトリウム試薬の5 $\mu$ lを各ウェルに加える (コメント2参照)。
10. プレートシールで再度覆い、プレート振盪器で少なくとも15分間振盪する。
11. 適当なプレートリーダー (例えば、Victor, Perkin Elmer Life Sciences, Milton Keynes, UK) を使って620nmでの吸光度を測定する。これらの条件で、対照の吸光度は0.9~1.4であり、バックグラウンドは0.2~0.35であり、そして、信号対雑音比~12を与えらる。これらの条件を用いて得られたデータから計算された2' 因子は、0.6~0.9の間である。

## 【 0 1 3 8 】

## コメント

- (1)ポリビニルアルコールは沸騰水に溶解く、2~3時間の攪拌を必要とする。
- (2)マラカイトグリーン試薬とクエン酸ナトリウムの添加時間の間隔は、ATPの非酵素的加水分解を少なくするため、できるだけ短く保つべきである。一度クエン酸ナトリウムが加えられれば、色は室温で4時間まで安定である。
- (3)化合物は、Biomex FXロボット(Beckman Coulter)を用いて分析プレートに加えることができる。マルチドロップ384ディスペンサー (Thermo Labsystems, Basingstoke, UK) が、プレートへ試薬を加えるために都合よく使用できる。
- (4)分析条件の時間、蛋白質および基質濃度は、信号対雑音比を保持しながら、最小限の蛋白質濃度を達成するように最適化された。
- (5)信号対雑音比(S/N)は次の式を用いて計算される。

【 数 1 】

$$(S-B)/\sqrt{(S(SD))^2 + (B(SD))^2}$$

(6)HSP90の比活性を決定するために、濃度範囲(0~10 $\mu$ M)の無機ホスフェートが調製され、記載されているようにして620nmでの吸光度が測定される。比活性は、得られた検量線から計算される。

上記の分析で試験された化合物に対して、二つの活性範囲、すなわちA=<50 $\mu$ M; B=>50 $\mu$ Mのうちの一つが割り当てられ、これらの割り当てが上に報告されている。

## 【 0 1 3 9 】

## 蛍光偏光分析法

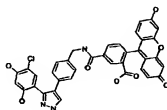
蛍光偏光[蛍光異方性としても知られている]は、溶液中の蛍光発光種の回転を測定する 50

。この場合、分子が大きいほど、蛍光発光をより偏光させる。蛍光体が偏光で励起されるときに、発光もまた偏光される。分子サイズは蛍光発光の偏光に比例する。

[ 0 1 4 0 ]

蛍光標識プローブ-RBT0045864-FAM-

[ 化 4 2 ]



10

がHSP90[全長ヒト、全長酵母またはN-末端ドメインのHSP90]と結合し、その異方性[プローブ:蛋白質複合体の回転]が測定される。

試験化合物を分析プレートに加え、平衡状態にし、その異方性を再度測定する。異方性の変化は、化合物のHSP90との競合的な結合(それによりプローブが遊離する)に由来する。

[ 0 1 4 1 ]

材料

20

試薬は市販品で最高純度のものであり、全ての水溶液はAR水を用いて調製される。

1) コスター 96-ウェル ブラック分析プレート #3915

2) (a) 100mM Tris pH7.4; (b) 20mM KCl; (c) 6mM MgCl<sub>2</sub> の分析緩衝液、室温で保存

3) BSA(ウシ血清アルブミン) 10mg/ml (New England Biolabs # B9001S)

4) 100%DMSO中の20mMプローブ貯蔵濃度。暗所、RTで貯蔵。作業濃度はAR水で希釈し200nMであり、4℃で貯蔵。分析での最終濃度は80nM。

5) E. coliにより発現されたヒト全長HSP90蛋白質、95%以上に精製し(例えば、Panaretouら、1998参照)、50μLに分割して-80℃で保存

[ 0 1 4 2 ]

プロトコール

30

1) 100μl 1×緩衝液をウェル11Aおよび12A(=FP BLNK)に加える。

2) 分析混合物を調製-プローブが光感受性なので、全試薬はパケツに蓋をして氷上で保存される。

[ 表 7 ]

#### i. 最終濃度<sup>n</sup>

	10 ml	1x
• 1xHsp90 FP 緩衝液		
• BSA 10mg/ml (NEB)		
5 μg/ml	5.0 μl	
• プローブ 200μM		
80 nM	4.0 μl	
• ヒト全長 Hsp90		
200 nM	6.25 μl	

40

3) 全ての他のウェルに100μlの分析混合物を分割

4) プレートで覆い、平衡状態にするために暗所、室温で20分間放置

[ 0 1 4 3 ]

化合物希釈プレート-1×3の一連の希釈

50

- 1) きれいな96-ウェルv底プレート-[#VWR007/008/257]のウェルB1~H11に100%DM  
SO 10 $\mu$ lを加える。
- 2) ウェルA1~A11に100%DMSO 17.5 $\mu$ lを加える。
- 3) 2.5 $\mu$ lのcpdをA1に加える。これはcpds 20mMと仮定して、2.5mM[50 $\times$ ]貯蔵cp  
dを与える。

4) ウェルA2~A10に対して繰り返す。列11および列12は対照。

5) 列12を除いた行Aから行Bに5 $\mu$ lを移す。よく混合。

6) 行Bから行Cへ5 $\mu$ lを移す。よく混合。

7) 行Gまで繰り返す。

8) 行Hには化合物を加えないーこれが0行。

9) これにより50 $\mu$ M~0.07 $\mu$ Mの1 $\times$ 3の一連の希釈ができる。

10) ウェルB12に100 $\mu$ M標準化合物溶液20 $\mu$ lを調製する。

11) 最初のインキュベーション後、分析プレートをFusion<sup>®</sup> a-FP plate reader(Packa  
rd BioScience, Pangbourne, Berkshire, UK)で読み取る。

12) 最初の読み取り後、希釈された化合物の2 $\mu$ lを列1~列10の各ウェルに加える。

列11[検量線を与える]において、B11~H11にだけ化合物を加える。100mM標準cpdの2 $\mu$ l  
をウェルB12からH12(陽性対照である)に加える。

13) 2' 因子は0対照および陽性ウェルから計算される。それは典型的に0.7~0.9の値を  
与える。

上記の分析で試験された化合物に対して、二つの活性範囲、すなわちA=<10 $\mu$ M; B=>1 20  
0 $\mu$ Mのうちの一つが割り当てられ、これらの割り当てが上に報告されている。

[ 0 1 4 4 ]

増殖阻害分析も、HSP90阻害剤候補の分析に使用された。

スルホログミンB (SRB) 分析による細胞毒性試験: 50%阻止濃度(IC<sub>50</sub>)の計算

1日目

1) 血球計数器により細胞数を決定する。

2) 8 チャンネルマルチピペッターを用いて、細胞懸濁液(3600細胞/ウェルまたは2 $\times$ 10<sup>4</sup>細胞/  
ml)の160 $\mu$ lを96-ウェルマイクロタイタープレートの各ウェルに加える。

3) CO<sub>2</sub> インキュベーター内で37℃で一晩インキュベートする。

[ 0 1 4 5 ]

2日目

4) 薬物の貯蔵溶液を調製し、各薬物の連続希釈を媒体中で行い、ウェル中に最終濃度のも  
のを作成した。

5) マルチピペッターを用いて、薬物の40 $\mu$ l(5 $\times$ 最終濃度)を四重のウェルに加える。

6) 対照ウェルは96ウェルプレートのいずれかの端であり、ここに媒体の40 $\mu$ lを加える。

7) CO<sub>2</sub> インキュベーター中で4日間(48時間)、プレートをインキュベートする。

[ 0 1 4 6 ]

6日目

8) 媒体を流しに捨て、プレートを10%氷冷トリクロロ酢酸(TCA)中にゆっくりと浸す。氷  
上で約30分間放置する。

9) プレートを水道水浴に浸した後、それを捨てることによって、プレートを水道水で3回  
洗浄する。

10) インキュベーター中で乾燥する。

11) 1%酢酸中の0.4%SRBの100 $\mu$ lを各ウェルに加える(96ウェルプレートの最後の行(右側)  
を除いて、これは0%対照、すなわち無薬物、無染色である。一番目の行は、無薬物だが有  
染色の100%対照となる)。15分間放置する。

12) 結合しなかったSRB染色剤を1%酢酸で4回洗浄して洗い流す。

13) インキュベーター中でプレートを乾燥する。

14) 10mMのTrisベースの100 $\mu$ lを用いてSRBを可溶化し、プレートをプレート振盪器の上  
に5分間置く。

10

30

40

15) プレートリーダーを用いて540nmでの吸光度を決定する。四重のウェルの平均吸光度を計算し、対照の未処理のウェルに対する値のパーセントとして表す。

16) 対数薬物濃度に対する吸光度%をプロットし、IC<sub>50</sub>を決定する。

説明した方法により、実施例2の化合物は、SRB増殖阻止評価で「A」の範囲(<50μM)のIC<sub>50</sub>を示した。

[ 0 1 4 7 ]

#### 参考文献

本発明、および本発明が属する技術分野の状況を、より十分に記載し、開示するために、多くの刊行物を上で引用している。これら参考文献の完全な引用を以下に示す。これらの参考文献の各々が、本明細書の中で完全に言及され、ここに組み込まれている。

[ 0 1 4 8 ]

Argon Y および Simen BB. 1999 "Grp94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties", Semin. Cell Dev. Biol., 10巻, 495-505頁.  
Bijlmakers M-JE, Marsh M. 2000 "Hsp90 is essential for the synthesis and subsequent membrane association, but not the maintenance, of the Src-kinase p56lck", Molecular Biology of the Cell, 11(5) 巻, 1585-1595頁.

Bucci M; Rovlezso F; Cicala C; Sessa WC, Cirino G. 2000 "Geldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90 (Hsp90) mediated signal transduction has anti-inflammatory effects and interacts with glucocorticoid receptor in vivo", Brit. J. Pharmacol., 131(1)巻, 13-16頁.

Chen C-F, Chen Y, Dai KD, Chen P-L, Riley DJ および Lee W-H. 1996 "A new member of the hsp90 family of molecular chaperones interacts with the retinoblastoma protein during mitosis and after heat shock", Mol. Cell. Biol., 16巻, 4691-4699頁.

[ 0 1 4 9 ]

Chiosis G, Timaul MN, Lucas B, Munster PN, Zheng FF, Sepp-Loenzino L および Rosen N. 2001 "A small molecule designed to bind to the adenine nucleotide pocket of HSP90 causes Her2 degradation and the growth arrest and differentiation of breast cancer cell", Chem. Biol., 8巻, 289-299頁.

Conroy SE および Latchman DS. 1996 "Do heat shock proteins have a role in breast cancer?", Brit. J. Cancer, 74巻, 717-721頁.

Felts SJ, Owen BAL, Nguyen P, Trepel J, Donner DB および Toft DO. 2000 "The HSP90-related protein TRAP1 is a mitochondrial protein with distinct functional properties", J. Biol. Chem., 5巻, 3305-3312頁.

Fuller W, Cuthbert AW. 2000 "Post-translational disruption of the delta F508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-molecular chaperone complex with geldanamycin stabilizes delta F508 CFTR in the rabbit reticulocyte lysate", J. Biol. Chem., 275(48)巻, 37462-37468頁.

Hickey E, Brandon SE, Smale G, Lloyd D および Weber LA. 1999 "Sequence and regulation of a gene encoding a human 89-kilodalton heat shock protein", Mol. Cell. Biol., 9巻, 2615-2626頁.

[ 0 1 5 0 ]

Hoang AT, Huang J, Rudra-Gonguly N, Zheng J, Powell WC, Rabindron SK, Wu C and Roy-Burman P. 2000 "A novel association between the human heat shock transcription factor 1 (HSF1) and prostate adenocarcinoma", Am. J. Pathol., 156巻, 857-864頁.

Hostein I, Robertson D, Di Stefano F, Workman P および Clarke PA. 2001 "Inhibition of signal transduction by the HSP90 inhibitor

10

20

30

40

50

- 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin results in cytoskeleton and apoptosis". Cancer Res., 81巻, 4003-4009頁.
- Hur E, Kim H-H, Choi SM, Kim JH, Yim S, Kwon HJ, Choi Y, Kim DK, Lee M-O, Park H. 2002 "Reduction of hypoxia-induced transcription through the repression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ /aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator DNA binding by the 90-kDa heat-shock protein inhibitor radicicol", Mol. Pharmacol., 62(5)巻, 975-982頁.
- Hutterら, 1996, Circulation, 94巻, 1408頁.
- [ O 1 5 1 ]
- Jameel A, Skilton RA, Campbell TA, Chander SK, Coombes RC および Luqmani YA. 1992 "Clinical and biological significance of HSP89 $\alpha$  in human breast cancer", Int. J. Cancer, 50巻, 409-415頁. 10
- Jolly C および Morimoto RI. 2000 "Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death", J. Natl. Cancer Inst., 92巻, 1564-1572頁.
- Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, Sakita I, Inoue M, Yano M, Tsujinata T, Shamma A および Monden M. 1999 "Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus", Cancer, 85巻, 1649-1657頁.
- Kelland LR, Abel G, McKeage MJ, Jones M, Goddard PM, Valenti M, Murrer BA および Harrap KR. 1993 "Preclinical antitumour evaluation of bis-acetato-amino-dichloro-cyclohexylamine platinum (IV): an orally active platinum drug", Cancer Research, 53巻, 2581-2586頁. 20
- [ O 1 5 2 ]
- Kelland LR, Sharp SY, Rogers PM, Myers TG および Workman P. 1999 "DT-diaphorase expression and tumor cell sensitivity to 17-allylamino, 17-demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat shock protein 90", J. Natl. Cancer Inst., 91巻, 1940-1949頁.
- Kurebayashi J, Otsuki T, Kurosumi M, Soga S, Akinaga S, Sonoo, H. 2001 "A radicicol derivative, KP58333, inhibits expression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and vascular endothelial growth factor, angiogenesis and growth of human breast cancer xenografts", Jap. J. Cancer Res., 92(12)巻, 1342-1351頁. 30
- Kwon HJ, Yoshida M, Abe K, Horinouchi S および Beppie T. 1992 "Radicicol, an agent inducing the reversal of transformed phenotype of src-transformed fibroblasts", Biosci., Biotechnol., Biochem., 56巻, 538-539頁.
- Lebeau J, Le Cholony C, Prosperi MT および Goubin G. 1991 "Constitutive overexpression of 89 kDa heat shock protein gene in the HBL100 mammary cell line converted to a tumorigenic phenotype by the EJ/T24 Harvey-ras oncogene", Oncogene, 6巻, 1125-1132頁. 40
- [ O 1 5 3 ]
- Marcu MG, Chadli A, Bouhouche J, Catelli M および Neckers L. 2000a "The heat shock protein 90 antagonist novobiocin interacts with a previously unrecognized ATP-binding domain in the carboxyl terminus of the chaperone", J. Biol. Chem., 275巻, 37181-37186頁.
- Marcu MG, Schulte TW および Neckers L. 2000b "Novobiocin and related coumarins and depletion of heat shock protein 90-dependent signaling proteins", J. Natl. Cancer Inst., 92巻, 242-248頁.
- Martin KJ, Krizman BM, Price LM, Koh B, Kwan CP, Zhang X, MacKay A, 50

- O' Hare MJ, Kaelin CM, Mutter GL, Pardee AB および Sager R. 2000 "Linking gene expression patterns to therapeutic groups in breast cancer", Cancer Res., 60巻, 2232-2238頁.
- Neckers L, Schulte TW および Mommaugh E. 1999 "Geldanamycin as a potential anti-cancer agent: its molecular target and biochemical activity", Invest. New Drugs, 17巻, 361-373頁.
- [ O 1 5 4 ]
- Page J, Heath J, Fulton R, Yalkowsky E, Tabibi E, Tomaszewski J, Smith A および Rodman L. 1997 "Comparison of geldanamycin (NSC-122750) and 17-allylaminogeldanamycin (NSC-330507D) toxicity in rats", Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 38巻, 308頁. 10
- Panaretou B, Prodromou C, Roe SM, O' Brien R, Ladbury JE, Piper PW および Pearl LH. 1998 "ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the HSP90 molecular chaperone in vivo", EMBO J., 17巻, 4829-4836頁.
- Plumierら, 1997, Cell. Stress Chap., 2巻, 162頁
- Praet WB. 997 "The role of the HSP90-based chaperone system in signal transduction by nuclear receptors and receptors signalling via MAP kinase", Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 37巻, 297-326頁.
- [ O 1 5 5 ] 20
- Prodromou C および Pearl LH. 2000a "Structure and in vivo function of HSP90", Curr. Opin. Struct. Biol., 10巻, 46-51頁.
- Prodromou C, Roe SM, O' Brien R, Ladbury JE, Piper PW および Pearl LH. 1997 "Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the HSP90 molecular chaperone", Cell, 90巻, 65-75頁.
- Prodromou C, Panaretou B, Chohan S, Siligardi G, O' Brien R, Ladbury JE, Roe SM, Pier PW および Pearl LH. 2000b "The ATPase cycle of HSP90 drives a molecular 'clamp' via transient dimerization of the N-terminal domains", EMBO J., 19巻, 4383-4392頁.
- Rajderla, 2000, Ann. Neurol., 47巻, 782頁. 30
- [ O 1 5 6 ]
- Roe SM, Prodromou C, O' Brien R, Ladbury JE, Piper PW および Pearl LH. 1999 "Structural basis for inhibition of the HSP90 molecular chaperone by the antitumour antibiotics radicicol and geldanamycin", J. Med. Chem., 42巻, 260-266頁.
- Rutherford SL および Lindquist S. 1998 "HSP90 as a capacitor for morphological evolution. Nature, 396巻, 336-342頁.
- Schulte TW, Akinaga S, Murakata T, Agatsuma T, Sugimoto S, Nakano H, Lee YS, Simen BB, Argon Y, Felts S, Toft DO, Neckers LM および Sharma SV. 1999 "Interaction of radicicol with members of the heat shock protein 90 family of molecular chaperones", Mol. Endocrinology, 13巻, 1435-1448頁. 40
- Schulte TW, Akinaga S, Soga S, Sullivan W, Sensgard B, Toft D および Neckers LM. 1998 "Antibiotic radicicol binds to the N-terminal domain of HSP90 and Shares important biologic activities with geldanamycin", Cell Stress and Chaperones, 3巻, 100-108頁.
- [ O 1 5 7 ]
- Schulte TW および Neckers LM. 1998 "The benzoquinone ansamycin 17-allyl-amino-17-deethoxygeldanamycin binds to HSP90 and shares important biologic activities with geldanamycin", Cancer Chemother. Pharmacol., 42巻, 273-279頁. 50

- Sittlerら, 2001, Hum. Mol. Genet., 10巻, 1307頁.
- Smith DF. 2001 "Chaperones in signal transduction", in: Molecular chaperones in the cell (P Lund, ed.: Oxford University Press, Oxford and NY), 165-178頁.
- Smith DF, Whitesell および Katsanis E. 1998 "Molecular chaperones: Biology and prospects for pharmacological intervention", Pharmacological Reviews, 50巻, 493-513頁.
- [ O 1 5 8 ]
- Song HY, Dunbar JD, Zhang YX, Guo D および Donner DB. 1995 "Identification of a protein with homology to hsp90 that binds the type I tumour necrosis factor receptor", J. Bio. Chem., 270巻, 3574-3581頁. 10
- Stebbins CE, Russo A, Schneider C, Rosen N, Hartl FU および Pavletich NP. 1997 "Crystal structure of an HSP90-geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent", Cell, 89巻, 239-250頁.
- Supko JG, Hickman RL, Grever MR および Malspeis L. 1995 "Preclinical pharmacologic evaluation of geldanamycin as an antitumour agent", Cancer Chemother. Pharmacol., 36巻, 305-315頁.
- Tratzellら, 1995, Proc. Nat. Acad. Sci., 92巻, 2944頁.
- [ O 1 5 9 ]
- Trostら, 1998, J. Clin. Invest., 101巻, 855頁. 20
- Tytell M および Hooper PL. 2001 "Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies", Emerging Therapeutic Targets, 5巻, 267-287頁.
- Uehara U, Hori M, Takeuchi T および Umezawa H. 1986 "Phenotypic change from transformed to normal induced by benzoquinoid ansamycins accompanies inactivation of p60src in rat kidney cells infected with Rous sarcoma virus", Mol. Cell. Biol., 6巻, 2198-2206頁.
- Waxman, Lloyd H. Inhibiting hepatitis C virus processing and replication. (Merck & Co., Inc., USA). PCT Int. Appl. (2002), WO 0207761
- Winkhoferら, 2001, J. Biol. Chem., 276巻, 45160. 30
- [ O 1 6 0 ]
- Whitesell L, Minnaugh EG, De Costa B, Myers CE および Neckers LM. 1994 "Inhibition of heat shock protein HSP90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation", Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 91巻, 8324-8328頁.
- Yorginら 2000 "Effects of geldanamycin, a heat-shock protein 90-binding agent, on T cell function and T cell nonreceptor protein tyrosine kinases", J. Immunol., 164(6)巻, 2915-2923頁.
- Young JC, Moarefi I および Hartl FU. 2001 "HSP90: a specialized but essential protein-folding tool", J. Cell. Biol., 154巻, 267-273頁. 40
- Zhao JF, Nakano H および Sharma S. 1995 "Suppression of RAS and MOS transformation by radicicol", Oncogene, 11巻, 161-173頁.



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internal Application No  
PCT/GB 03/05501

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

```
IPC 7 C07D231/38 C07D405/12 C07D401/12 C07D413/12 C07D403/12
C07D417/12 C07D409/12 C07D403/04 C07D405/10 C07D401/04
A61K31/415 //(C07D405/12,307:00,231:00),(C07D401/12,231:00,
```

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched: classification system followed by classification symbol

IPC 7 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, CHEM ABS Data

### C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages
------------	--

Relevant to claim No.

X,P DATABASE CHEMCATS 'Online!  
AMERICAN CHEMICAL SOCIETY;  
retrieved from STN  
XP002275488  
RNs 512817-94-6, 512812-41-8, 512817-19-5,  
512817-26-4. 494867-78-6

## 1.2

X,P WO 03 062206 A (FOSTER RICHARD ;SMITH  
JULIAN (GB); ARENA PHARMACEUTICALS INC  
(US);) 31 July 2003 (2003-07-31)  
examples 87-89.95

1,2,8,23

X WO 01 79187 A (SHELTON EMMA JANE ;SPENCER  
JEFFREY R (US); CAI SUI XIONG (US); CYT)  
25 October 2001 (2001-10-25)  
page 74; example 5

1, 2, 8, 23

-/-

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

\*A\* documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

<sup>a</sup> Earlier document but published on or after the international filing date

\*L\* documents which may throw doubts on priority claims) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\* Inter document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to

"y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*6\* document number of the same patient family

Date of the actual completion of the international search

Date of meeting of the international search report

30 March 2004

16/04/2004

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.O. 5815 Patentstrasse 2  
NL - 2200 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3015

Authorized officer \_\_\_\_\_

Frelon, D

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No.  
 PCT/68 03/05501

 A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 7 213:00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Documentation searched other than minimum documentation in the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passage	Relevant to claim No.
X	WO 98 52940 A (ANANTANARAYAN ASHOK ; CRITCH JOYCE ZUOMU (US); SELNESS SHAUN RAJ (US) 26 November 1998 (1998-11-26) page 756, line 226 - line 227; claim 69	1,2,8,23
X	WO 97 01551 A (FUJISAWA PHARMACEUTICAL CO ;AKAHANE, ATSUSHI (JP); KURODA SATORU (J) 16 January 1997 (1997-01-16) examples 26,44	1,2,8,23
X	WO 96 03385 A (SEARLE & CO ;LEE LEN F (US); PENNING THOMAS D (US); KRAMER STEVEN) 8 February 1996 (1996-02-08) page 24, lines 25-27; page 26, lines 35-36, page 55, lines 14-15 and 25-26	1,2,8,23

-/-

☒ Further documents are listed in the continuation of board.

☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another document or other special reason (see specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* inter-document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the applicant but cited to understand the principles or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step unless the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

30 March 2004

 Name and mailing address of the ISA  
 European Patent Office, P.O. Box 5516, Paternoster 2  
 NL - 2200 PH Rijswijk  
 Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 61 651 epo nl  
 Fax: (+31-70) 340-9010

Authorized officer

Frelon, D

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Date of International Application No.  
 PCT/GB 03/05501

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of documents, with indications, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE CHEMCATS 'Online! AMERICAN CHEMICAL SOCIETY; retrieved from STN XP002275489 RNS 494867-81-1, 442643-27-8, 442642-90-2, 430450-02-5, 442643-55-2, 426252-69-9, 426246-04-7, 428478-82-4, 426242-81-1, 426241-82-9, 428480-97-1, 428479-84-9 ---	1,2
X	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 013, no. 061 (C-567), 10 February 1989 (1989-02-10) -A JP 63 253068 A (NIPPON NOHYAKU CO LTD), 20 October 1988 (1988-10-20) page 45, compound 84 ---	1,2,8,23
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; SAUSINS, A. ET AL: "Methods of synthesis of 4-(pyrazolyl)- and 4-(pyridyl)-5-oxo-1,4,5,7- tetrahydrofuro[3,4-b:pyridines]" retrieved from STN Database accession no. 124:202067 XP002275490 RNS 154926-86-0, 174314-90-0, 174314-91-1, 174314-93-3, 174314-96-6, 174314-97-7, 174314-98-8 & KHIIMIYA GETEROTSIKLICHESKIKH SOEDINENII (1995), (7), 966-72, ---	1,2,8
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; BARALDI, P. G. ET AL: "Synthesis and cardiodepressant activity of dialkyl 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(pentatomic-het erearyl)-3,5- pyridinedicarboxylates. 2" retrieved from STN Database accession no. 120:289435 XP002275491 abstract: RN 154926-86-0 & DRUG DESIGN AND DISCOVERY (1993), 10(4), 319-29, --- -/---	1,2,8,23

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Application No.  
PCT/GB 03/05501

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE CA 'Online!            CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS,            OHIO, US;            SHANKER, M. S. S. ET AL: "A novel            synthesis of pyrazolylchromone            derivatives"            retrieved from STN            Database accession no. 116:128767            XP002275492            RN 139394-43-7            &amp; ASIAN JOURNAL OF CHEMISTRY (1992), 4(1),            166-70,</p>	1,2,8
X	<p>DATABASE CA 'Online!            CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS,            OHIO, US;            CEKAVICIUS, B. ET AL: "Synthesis and            hepatoprotective properties of            4-pyrazolyl-1,4- dihydropyridines"            retrieved from STN            Database accession no. 108:68683            XP002275493            abstract; RN 112758-37-9            &amp; KHIMIKO-FARMATSEVICHESKII ZHURNAL            (1987), 21(8), 959-65,</p>	1,2,8,23
X	<p>DATABASE CA 'Online!            CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS,            OHIO, US;            HOFFMANN, MICHAEL G. ET AL: "O-glycosyl            imidates. 19. Reaction of glycosyl            trichloroacetimidates with silylated            C-nucleophiles"            retrieved from STN            Database accession no. 104:51038            XP002275494            RNs 99701-82-3, 99701-81-2, 99701-83-4            &amp; LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE (1985), (12),            2403-19,</p>	1,2,8

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. Appl. No.  
PCT/68 03/05501

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; ALONSO, G. ET AL: "Synthesis of pyrazole C-nucleosides by 1,3-dipolar cycloaddition" retrieved from STN Database accession no. 87:184819 XP002275495 RN 64559-22-4 & ANALES DE QUIMICA (1968-1979) (1976), 72(11-12), 987-90,	1,2,8
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; ARAKAWA, KIICHI ET AL: "Synthesis of 1-(3-phenylpyrazol-4-yl).beta.-D-ribofuran oside, a C-nucleoside" retrieved from STN Database accession no. 82:73382 XP002275496 RNs 54680-27-2, 54680-28-3, 54680-29-4, 54680-30-7 & CHEMISTRY LETTERS (1974), (11), 1305-8,	1,2,8
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; GARCIA-LÓPEZ, M. T. ET AL: "Synthesis of heterocyclic C-glycosyl compounds by 1,3-dipolar cycloaddition of diazomethane to acetylenic-carbohydrate derivatives" retrieved from STN Database accession no. 75:88530 XP002275497 RNs 34020-52-5, 34020-53-6 & JOURNAL OF HETEROCYCLIC CHEMISTRY (1971), 8(3), 525,	1,2,8
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; TEREENT'EV, P. B. ET AL: "Addition of diazomethane to.beta.-ethynylpyridines" retrieved from STN Database accession no. 73:45406 XP002275498 RN 27509-32-6 & KHIMIYA GETEROTSIKICHESKIKH SOEDINENII (1970), (4), 498-502,	1,2,8

-/-

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int. Appl. No.  
PCT/GB 03/05501

## C. (Continued) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passage	Relevant to claim No.
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; BORRACHERO-MOYA, PASTORA ET AL: "Synthesis of 4-(4,6-di-O-benzyl-2,3-dideoxy-.beta.-D-er ythro-hex-2- enopyranosyl)pyrazoles from 3,4,6-tri-O-acetyl-D-glucal" retrieved from STN Database accession no. 129:189545 XP002275499 RNs 211674-08-7, 211674-06-5, 211674-15-6 & CARBOHYDRATE RESEARCH (1998), 308(1-2), 181-190,	1,2,8
X	----- DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; BARALDI, P. G. ET AL: "Synthesis and cardiodepressant activity of dialkyl 1,4-dihydro-2,6-dimethyl-4-(pentatomic-het eroaryl)-3,5- pyridinedicarboxylates. 2" retrieved from STN Database accession no. 120:289435 XP002275500 RN 154926-87-1 & DRUG DESIGN AND DISCOVERY (1993), 10(4), 319-29,	1,2,8,23
X	----- DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; GHOSH, CHANDRA KANTA ET AL: "Benzopyrans. 31. Reaction of 1,1-diacetyl-2-(6-methyl-4-oxo-4H-1- benzopyran-3-yl)ethylene with phenyldiazomethane" retrieved from STN Database accession no. 119:270955 XP002275501 RN 151466-29-4 & TETRAHEDRON (1993), 49(19), 4135-40,	1,2,8
	----- -/-	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Appl. No.  
PCT/GB 03/05501

## C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passage	Relevant to claim No.
X	<p>DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; MORENO-MANAS, MARCIAL ET AL: " Hindered rotation around C(sp<sup>2</sup>)-C(sp<sup>3</sup>) bonds in the enol forms of .alpha.-(9-fluorenyl)-.beta.-diketones and in 3,5-disubstituted 4-(9-fluorenyl)pyrazoles. A proton NMR study" retrieved from STN Database accession no. 110:74500 XP002275502 RN 118365-08-5 &amp; BULLETIN OF THE CHEMICAL SOCIETY OF JAPAN (1988), 61(5), 1827-9,</p>	1,2,8
X	<p>DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; GONZALEZ, A. ET AL: "Metal complexes in organic synthesis. Preparation of .alpha.-(1-adamantyl)-.beta.-dicarbonyl compounds and 4-(1-adamantyl)-3,5-disubstituted pyrazoles and -isoxazoles" retrieved from STN Database accession no. 106:213817 XP002275503 RN 108221-13-2 &amp; TETRAHEDRON (1986), 42(15), 4253-7,</p>	1,2,8
X	<p>DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; BOBOWSKI, GEORGE ET AL: "4-Substituted-3-alkyl-3,4-dihydro-2H-1,3- benzoxazin-2-ones. IV. Keto-enol tautomerism of .beta.-keto ester derivatives. Reaction of .beta.-dicarbonyl compounds with diamines" retrieved from STN Database accession no. 93:168205 XP002275504 RN 74834-76-4 &amp; JOURNAL OF HETEROCYCLIC CHEMISTRY (1960), 17(3), 519-28,</p>	1,2,8
A	<p>WO 00 31063 A (CRICH JOYCE Z;AHANTAHARAYAN ASHOK ; CLARE MICHAEL (US); SEARLE &amp; C) 2 June 2000 (2000-06-02) Abstract; claims 1,3,135,139,140</p>	1-21, 23-25

-/-

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int'l Application No  
 PCT/GB 03/05501

## C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BANNIER A ET AL: "DETERMINATION OF A NEW ANTI-INFLAMMATORY AGENT, 1-ISOBUTYL-3,4-DIPHENYLPYRAZOLE-5-ACETIC ACID, BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY" JOURNAL OF PHYSIOLOGY, XX, XX, vol. 227, no. 1, 8 January 1982 (1982-01-08), pages 213-218, XP009008354 ISSN: 0022-3751 the whole document	1-21, 23-25
A, P	WO 03 055860 A (CANCER RES TECHNOLOGY LTD ;DRYSDALE MARTIN JAMES (GB); PEARL LAURE) 10 July 2003 (2003-07-10) the whole document	1-21, 23-25



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/GB 03/05501

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Although claims 22, 26 and 27 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ 68 03 /05501

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

## Continuation of Box I.2

The presently claimed subject-matter relates to an extremely large number of possible compounds. Support within the meaning of Article 6 PCT and disclosure within the meaning of Article 5 PCT is to be found, however, for only a very small proportion of the compounds claimed. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be supported and disclosed, namely those parts relating to the compounds as illustrated by the examples wherein Ar represents always a (optionally substituted) phenyl group directly linked to the pyrazole core.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.  
PCT/88 03/05501

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 03062206	A	31-07-2003	WO	03062206 A2		31-07-2003
WO 0179187	A	25-10-2001	CA	9337201 A		30-10-2001
			AU	2406271 A1		25-10-2001
			EP	1324993 A2		09-07-2003
			WO	0179187 A2		25-10-2001
			US	2002010169 A1		24-01-2002
WO 9852940	A	26-11-1998	AU	754830 B2		28-11-2002
			AU	7583398 A		11-12-1998
			BG	103964 A		31-08-2000
			BR	9809147 A		01-08-2000
			CA	2291115 A1		26-11-1998
			CN	1264377 T		23-08-2000
			EA	3925 B1		30-10-2003
			EE	9900527 A		15-06-2000
			EP	1000055 A1		17-05-2000
			HU	0001880 A2		28-03-2001
			ID	22982 A		23-12-1999
			JP	2002508754 T		19-03-2002
			NO	995695 A		21-01-2000
			NZ	501112 A		25-10-2002
			PL	337020 A1		31-07-2000
			SK	157899 A3		14-08-2000
			TR	200000235 T2		22-05-2000
			WO	9852940 A1		26-11-1998
			US	6617324 B1		09-09-2003
			US	6514977 B1		04-02-2003
			US	6423713 B1		23-07-2002
			ZA	9804358 A		24-05-1999
WO 9701551	A	16-01-1997	WO	9701551 A1		16-01-1997
			JP	11508267 T		21-07-1999
WO 9603385	A	08-02-1996	US	5486534 A		23-01-1996
			AT	210648 T		15-12-2001
			AU	3126795 A		22-02-1996
			CA	2195123 A1		08-02-1996
			DE	69524600 D1		24-01-2002
			DE	69524600 T2		18-07-2002
			DK	772597 T3		08-04-2002
			EP	1127878 A1		29-08-2001
			EP	0772597 A1		14-05-1997
			ES	2169760 T3		16-07-2002
			JP	3490716 B2		26-01-2004
			JP	10503201 T		24-03-1998
			PT	772597 T		31-05-2002
			WO	9603385 A1		08-02-1996
			US	5580985 A		03-12-1996
			US	5756530 A		26-05-1998
			US	6028072 A		22-02-2000
JP 63253068	A	20-10-1988	JP	63253068 T1		20-10-1988
WO 0031063	A	02-06-2000	US	6514977 B1		04-02-2003
			AU	2145400 A		13-06-2000
			BG	105620 A		31-01-2002
			BR	9915420 A		22-01-2002

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. Appl. No.  
PCT/GB 03/05501

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0031063 A		CA 2351725 A1	02-06-2000
		CN 1342157 T	27-03-2002
		CZ 20011714 A3	12-12-2001
		EE 200100268 A	16-12-2002
		EP 1144403 A1	17-10-2001
		HU 0200130 A2	29-06-2002
		ID 29993 A	25-10-2001
		JP 2002530397 T	17-09-2002
		NO 20012456 A	19-07-2001
		NZ 512344 A	28-11-2003
		PL 353853 A1	01-12-2003
		SK 6852001 A3	04-06-2002
		TR 200102001 T2	21-12-2001
		WO 0031063 A1	02-06-2000
		US 6617324 B1	09-09-2003
		US 6525059 B1	25-02-2003
		US 6423713 B1	23-07-2002
		ZA 200103882 A	14-10-2002
WO 03055860 A	10-07-2003	WO 03055860 A1	10-07-2003

## フロントページの続き

(51) Int. Cl.

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 D 417/12	(2006. 01)	C 0 7 D 417/12	
C 0 7 D 409/12	(2006. 01)	C 0 7 D 409/12	
C 0 7 D 403/04	(2006. 01)	C 0 7 D 403/04	
C 0 7 D 405/10	(2006. 01)	C 0 7 D 405/10	
C 0 7 D 401/04	(2006. 01)	C 0 7 D 401/04	
C 0 7 D 405/14	(2006. 01)	C 0 7 D 405/14	
A 6 1 K 31/496	(2006. 01)	A 6 1 K 31/496	
A 6 1 K 31/5377	(2006. 01)	A 6 1 K 31/5377	
A 6 1 K 31/454	(2006. 01)	A 6 1 K 31/454	
A 6 1 P 43/00	(2006. 01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 31/12	(2006. 01)	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 37/06	(2006. 01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 29/00	(2006. 01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 11/06	(2006. 01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 25/00	(2006. 01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 3/10	(2006. 01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 17/02	(2006. 01)	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 17/06	(2006. 01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 1/04	(2006. 01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 19/04	(2006. 01)	A 6 1 P 19/04	
A 6 1 P 9/10	(2006. 01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 35/00	(2006. 01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 27/02	(2006. 01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 15/00	(2006. 01)	A 6 1 P 15/00	

(81) 指定国 AP (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(71) 出願人 504236651

キャンサー リサーチ テクノロジー リミテッド

CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LTD.

イギリス、ロンドン ダブリュシー2エー 3エヌエル、サーディニア ストリート、サーディニア ハウス (番地なし)

(71) 出願人 504236178

ジ インスティテュート オブ キャンサー リサーチ

THE INSTITUTE OF CANCER RESEARCH

イギリス、ロンドン エスダブリュ7 3アールビー、オールド ブロンプトン ロード 123、ロイヤル キャンサー ホスピタル

Royal Cancer Hospital, 123 Old Brompton Road, London SW7 3RP, United Kingdom

(74) 代理人 100065248

弁理士 野村 信太郎

(72) 発明者 ベスウィック、マンディー、クリスティン

イギリス、ケンブリッジ シービー 1 6 ジービー、アピントン、グラント パーク (番地なし)  
、ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド

(72) 発明者 ドライズデール、マーティン、ジェームス

イギリス、ケンブリッジ シービー 1 6 ジービー、アピントン、グラント パーク (番地なし)  
、ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド

(72) 発明者 ダイモック、ブライアン、ウィリアム

イギリス、ケンブリッジ シービー 1 6 ジービー、アピントン、グラント パーク (番地なし)  
、ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド

(72) 発明者 マクドナルド、エドワード

イギリス、ロンドン エスダブリュ 7 3 アールビー、オールド ブロンプトン ロード 1 2 3  
、ロイヤル キャンサー ホスピタル、ジ インスティテュート オブ キャンサー リサーチ

Fターム (参考) 4C063 AA01 AA03 BB01 BB02 BB06 BB09 CC22 CC26 CC51 CC58  
CC67 CC75 CC81 CC92 DD06 DD10 DD12 DD22 EE01  
4C086 AA01 AA02 AA03 BC36 BC50 BC67 BC71 BC73 BC85 GA02  
GA04 GA07 GA08 GA09 GA10 GA12 MA01 MA04 NA14 ZA02  
ZA33 ZA36 ZA59 ZA66 ZA81 ZA89 ZA96 ZB08 ZB11 ZB26  
ZB33 ZC20 ZC35

# 【要約の続き】

ル基であり；そして、環Aは非芳香族の炭素環もしくは複素環であり、ここで(i)環炭素は任意に置換されていてもよく、そして／または(ii)環窒素は式-(Alk')<sub>n</sub>-(Cyc)<sub>m</sub>-(Alk')<sub>p</sub>-(Z)<sub>q</sub>-(Alk')<sub>r</sub>-Qの基(ここで、Alk'、Alk'およびAlk'は任意に置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルであり、Cycは任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基であり、m、n、p、rおよびsは、独立して0または1であり、Zは、-O-、-S-、-(C=O)-、-SO<sub>2</sub>-、-C(=O)O-、-OC(=O)-、-NR'-、-C(=O)NR'-、-NR'C(=O)-、-SO<sub>2</sub>NR'-または-NR'SO<sub>2</sub>- (ここで、R'は水素またはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルである)であり、そしてQは水素または任意に置換されていてもよい炭素環式基または複素環式基である)で任意に置換されていてもよい。